

Aus der Klinik für Anästhesie und Intensivtherapie
Direktor: Prof. Dr. med. Hinnerk Wulf
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg



**Nerventrauma in der peripheren Regionalanästhesie:
Histologische Untersuchung nach Nadel-Nerv-Perforation mit
„Tuohy“ - oder „Pencil-Point“ -Schliff im Tiermodell**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Matthias Tilmann Werner

aus

Marburg an der Lahn

Marburg 2011

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg am: 14. Februar 2011

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. Matthias Rothmund

Referent: Prof. Dr. Hinnerk F. W. Wulf

Korreferent: Prof. Dr. Ralf Kinscherf

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Hintergrund.....	1
1.2	Ziel der Studie.....	3
1.3	Theoretischer Hintergrund.....	4
1.3.1	Anatomie des Plexus brachialis bei Mensch und Schwein.....	4
1.3.2	Mikroskopische Anatomie des peripheren Nervensystems.....	5
1.3.3	Pathophysiologie des peripheren Nerven Traumas.....	7
1.3.4	Die Durchführung peripherer Nervenblockaden.....	9
1.3.5	Komplikationen der peripheren Nervenblockade.....	10
1.3.6	Die Studienlage.....	13
1.4	Fragestellung.....	15
2	Material und Methoden.....	17
2.1	Versuchstiere.....	17
2.1.1	Das Schwein als Modell.....	17
2.1.2	Art und Haltung der Versuchstiere.....	17
2.1.3	Ein-/Ausschlusskriterien.....	17
2.2	Die Nadeln.....	18
2.2.1	Die Nadel nach Tuohy.....	18
2.2.2	Die atraumatische Pencil-Point Nadel.....	18
2.3	Versuchsdurchführung.....	19
2.3.1	Anästhesieeinleitung.....	19
2.3.2	Versuchsgruppen.....	20
2.3.3	Präparation der Nerven.....	21
2.3.4	Perforation.....	21
2.3.5	Anästhesie.....	22
2.3.6	Ausbau und Fixation der Nerven.....	23
2.3.7	Versuchsende.....	23
2.4	Histologische Methoden.....	24
2.4.1	Vorbereitung und Schneiden der Proben.....	24
2.4.2	Hämatoxylin-Eosin Färbung.....	24

2.4.3	Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera	25
2.4.4	Immunhistochemische-CD68-Färbung	26
2.5	Auswertung	29
2.5.1	Der histologische Trauma-Score.....	30
2.6	Statistik	31
2.6.1	Fallzahlberechnung.....	31
2.6.2	Statistische Auswertung.....	32
3	Ergebnisse	33
3.1	Versuchstiere	33
3.2	Nerventraumata.....	33
3.3	Nervenproben.....	33
3.4	HE-Färbung (Screening nach Nervenschäden).....	34
3.5	Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera (Myelinschäden)	37
3.6	Immunhistochemische-Färbung (Makrophagenakkumulation).....	38
3.7	Ergebnisse des histologischen Trauma-Scores	38
4	Diskussion.....	41
4.1	Ergebnisse	41
4.2	Die Ergebnisse im Kontext vorliegender Literatur	41
4.3	Limitationen	43
4.4	Ausblick.....	45
4.5	Schlussfolgerung für die klinische Praxis	45
5	Zusammenfassung	47
6	Summary.....	49
7	Literaturverzeichnis.....	50
8	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	59
9	Abkürzungsverzeichnis	60
10	Verzeichnis der akademischen Lehrer	61
11	Danksagung.....	62

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Das Spektrum der modernen Anästhesie umfasst neben der Allgemeinanästhesie und Lokalanästhesie den Bereich der Regionalanästhesie. Diese unterteilt sich in rückenmarksnahe, periphere sowie intravenöse Anästhesieverfahren. Das Prinzip der beiden erstgenannten ist die Injektion von Lokalanästhetika in unmittelbare Nähe von Nerven oder Nervenplexen entweder als Einzelgabe (Single-Shot Technik) oder kontinuierlich im Rahmen von Katheterv Verfahren. Erstmals beschrieben wurde diese Technik von Hall im Jahr 1884, der Kokain benutzte, um die Schmerzleitung des brachialen Plexus zu blockieren.⁴² Mit der Publikation des Buches „*Schmerzlose Operationen, örtliche Betäubung mit indifferenten Flüssigkeiten*“ von Carl Ludwig Schleich 1894 begann sich allmählich die Leitungsanästhesie zu verbreiten.^{37,36} Beginn man Anfangs die zu betäubenden Nerven anhand von anatomischen Landmarken aufzusuchen, kam es ab den siebziger Jahren des vorherigen Jahrhunderts zum vermehrten Einsatz von Nervenstimulatoren, die dabei helfen, Nerven mittels elektrischer Reizung und deren neuromuskulärer Antwort zu finden.¹⁹ Seit ca. 10 Jahren wird, additiv zum Nervenstimulator oder auch als alleiniges Hilfsmittel, Ultraschall genutzt, um die entsprechenden Zielstrukturen auch optisch darstellen zu können.

Trotz dieser technischen Entwicklungen bleibt die Vermeidung akzidenteller Verletzungen von Nerven und die Reduktion derer Folgen ein wichtiger Bestandteil der klinischen und experimentellen Forschung.

Die Bedeutung der Regionalanästhesie hat in den letzten Jahrzehnten sowohl im Bereich der operativen Medizin als auch in der Schmerztherapie deutlich zugenommen. Während in Deutschland, Österreich und Frankreich mittlerweile ca. 23% aller Anästhesieverfahren regionalanästhesiologisch durchgeführt werden, liegt der Anteil regionalanästhesiologischer Verfahren in der Schweiz durchschnittlich bei 48%.³

Dieser Bedeutungszuwachs ist vor allem auf ein, durch mehrere Untersuchungen belegtes, vermindertes Anästhesierisiko zurückzuführen,²⁷ so dass regionale Anästhesie-Verfahren auch bei Patienten mit relevanten kardiopulmonalen Vorerkrankungen zum Einsatz kommen. Neben den neuroaxialen Regionalanästhesie-Verfahren wie die Epidural- und Spinalanästhesie, werden insbesondere periphere Regionalanästhesie-Verfahren (Plexus- und einzelne Nerven-Blockaden) zunehmend häufiger eingesetzt. Während die Applikation gerinnungshemmender Medikamente (Clopidogrel, Heparin, Acetylsalizylsäure) relative und absolute Kontraindikation für neuroaxiale Verfahren darstellen, da eine eingeschränkte Gerinnung die Entwicklung spinaler Hämatoome begünstigen kann, gilt dieses Risiko nicht für periphere Nervenblockadeverfahren, womit sich deren Relevanz in den letzten Jahren zusätzlich erhöht hat.⁴⁹

Insbesondere bei der postoperativen Schmerztherapie haben sich kontinuierliche Katheterverfahren als elementarer Bestandteil eines postoperativen Analgesiekonzeptes etabliert.^{93,109} Auch erfreuen sich Kathetertechniken zur kontinuierlichen Analgesie bei Patienten steigender Akzeptanz.^{11,10,3,94}

Mit zunehmender Anwendungshäufigkeit rücken neben Fragen der Effektivität und Wirtschaftlichkeit auch Aspekte der Patientensicherheit vermehrt in den Fokus. In der Literatur finden sich einige große Studien zur Häufigkeit des Auftretens von Nervenschäden im Rahmen von peripherer Regionalanästhesieverfahren.^{2,7,6,14,29,12} Diesen Studien und Übersichtsarbeiten lässt sich entnehmen, dass die Inzidenz von auftretenden persistierenden neurologischen Defiziten zwischen 0,04%¹² und 1%⁷ liegt. Die Inzidenz reversibler neurologischer Defizite, welche sich oft als Par- oder Dysästhesien manifestieren, liegt bei ca. 3%.¹² Hierbei dürfte die Dunkelziffer höher liegen, da die meisten Quellen auf Eigenangaben der Anwender beruhen.

Auch unter Beachtung von Empfehlungen, Verwendung von Nervenstimulatoren und/oder Ultraschallkontrolle kann es zu Verletzungen von Leitungsbahnen kommen.¹⁴ Bei der Diskussion um die Signifikanz von Nervenverletzungen sollte drei Faktoren Rechnung getragen werden: Qualität und Schwere des neurologischen Defizits, Dauer der klinischen Symptome und dem Patienten selbst. So können neurologische Symptome, die für einen älteren Menschen von nur geringer Bedeutung sind, eine existenzielle Bedeutung für einen Berufsmusiker darstellen. Eine Untersuchung aus

Daten dänischer Versicherungen für die Jahre 1996-2002 ergab, dass der häufigste Grund für Entschädigungszahlungen in der Anästhesie Nervenläsionen sind, die im Rahmen von regionalanästhesiologischen Verfahren entstanden sind.⁵⁰ Die bestehende Datenlage zeigt, dass Nervenschäden durch periphere Regionalanästhesie regelmäßig auftreten und ein alltägliches Problem bei der Durchführung dieser Verfahren darstellen. Auch wenn das Komplikationsrisiko peripherer wie rückenmarksnaher Nervenblockadeverfahren als wesentlich geringer einzustufen ist als das der Allgemeinanästhesie,^{59,58} werden Strategien und Techniken zur Vermeidung von Nerven-, Weichteil- und Organschäden eine wachsende Bedeutung zugemessen. Im Rahmen einer akzidentiellen Nadel-Nerv-Perforation wird der Konfiguration und der Größe der verwendeten Nadel eine bedeutende Rolle zur Vermeidung einer Nervenschädigung beigemessen.^{103,98,92,46} Die bislang publizierten Studien nutzten zwei methodische Wege, um Nadeltypen in ihrem traumatischen Potential zu vergleichen: die elektrophysiologische Beurteilung (Summenaktionspotentiale) und/oder die histologische Beurteilung entnommener Nervenproben.⁴⁶ Eine neurologisch-klinische Funktionsprüfung wurde bisher in keiner experimentellen Arbeit durchgeführt. Postoperative neurologische Defizite in der klinischen Routine müssen als multifaktoriell betrachtet werden (siehe Kapitel 1.3.5.3 Ursachen neurologischer Schäden) und sind nicht eindeutig auf die Konfiguration der verwendeten Kanüle zurückzuführen.⁵

1.2 Ziel der Studie

Gemäß vorliegender experimenteller Daten muss der Konfiguration der verwendeten Nadel -als Ursache der Entwicklung eines Nervenschadens- eine wesentliche Bedeutung beigemessen werden.⁹⁸ Insbesondere im Falle des „Worst-Case-Scenario“: Nadel-Nerv-Perforation könnte der Schliff der Kanülenspitze für das Ausmaß einer Nervenschädigung nicht unerheblich sein.

Für kontinuierliche Katheterverfahren werden großkalibrige Kanülen mit stumpfem wie auch scharfem Schliff eingesetzt. Insbesondere der stumpfe Pencil-Point Schliff soll als weniger traumatisch gelten und wird unter dieser Vorstellung genutzt.⁴⁶ Der Tuohy Schliff gilt als besonders günstig für die Katheterplatzierung, jedoch liegen keine Daten

bezüglich seines Traumatisierungspotentials im Falle einer Nervenperforation vor. Mit der vorliegenden Untersuchung soll histologisch überprüft werden, inwiefern die vermeintlich atraumatische Pencil-Point Kanüle im Rahmen einer Nadel-Nerv-Perforation weniger Schäden verursacht als die Tuohy Kanüle.

1.3 Theoretischer Hintergrund

1.3.1 Anatomie des Plexus brachialis bei Mensch und Schwein

Die Nervenfasern setzen sich aus den vorderen Wurzeln der Spinalnerven C5-C8, sowie einiger Fasern aus C4 und Th1 zusammen.¹⁰⁵ Nach dem Austritt aus den Foramina intervertebralia bilden sie drei Trunci aus. Der Truncus superior (C5-C6), der Truncus medius (C7), sowie der Truncus inferior (C8-Th1) ziehen als supraclaviculärer Anteil des brachialen Plexus in Nachbarschaft der Arteria subclavia durch die Skalenuslücke Richtung Axilla.

Dort bilden sie drei Fasciculi, die in Abhängigkeit ihrer Lage zu der A. axillaris als lateraler, medialer und posteriorer Fasciculus benannt werden und den inferioren Teil des Plexus brachialis bilden. Aus diesen Fasciculi entstehen die peripheren Nerven zur Innervation der oberen Extremität.⁶⁹ Neben diesem klassischen Schema sind in der Literatur sieben weitere Varianten des Plexus brachialis beschrieben. 61% der Individuen zeigen eine links/rechts Asymmetrie.⁵⁶ Ob diese Variationen einen signifikanten Einfluss auf die erfolgreiche Durchführung der Regionalanästhesieverfahren haben, ist unklar. Die Anatomie des Schweines entspricht weitestgehend der des Menschen (Abb. 1). Lediglich die Wurzelanteile an den peripheren Nerven differieren geringfügig, wobei Funktion und Lage identisch sind.⁷² Zu berücksichtigen ist jedoch, dass kein Schlüsselbein beim Schwein vorliegt, wodurch die Bildung der peripheren Nerven über Trunci und Fasciculi über eine kürzere Distanz stattfindet (Entfernung Rückenmark bis obere Extremität).

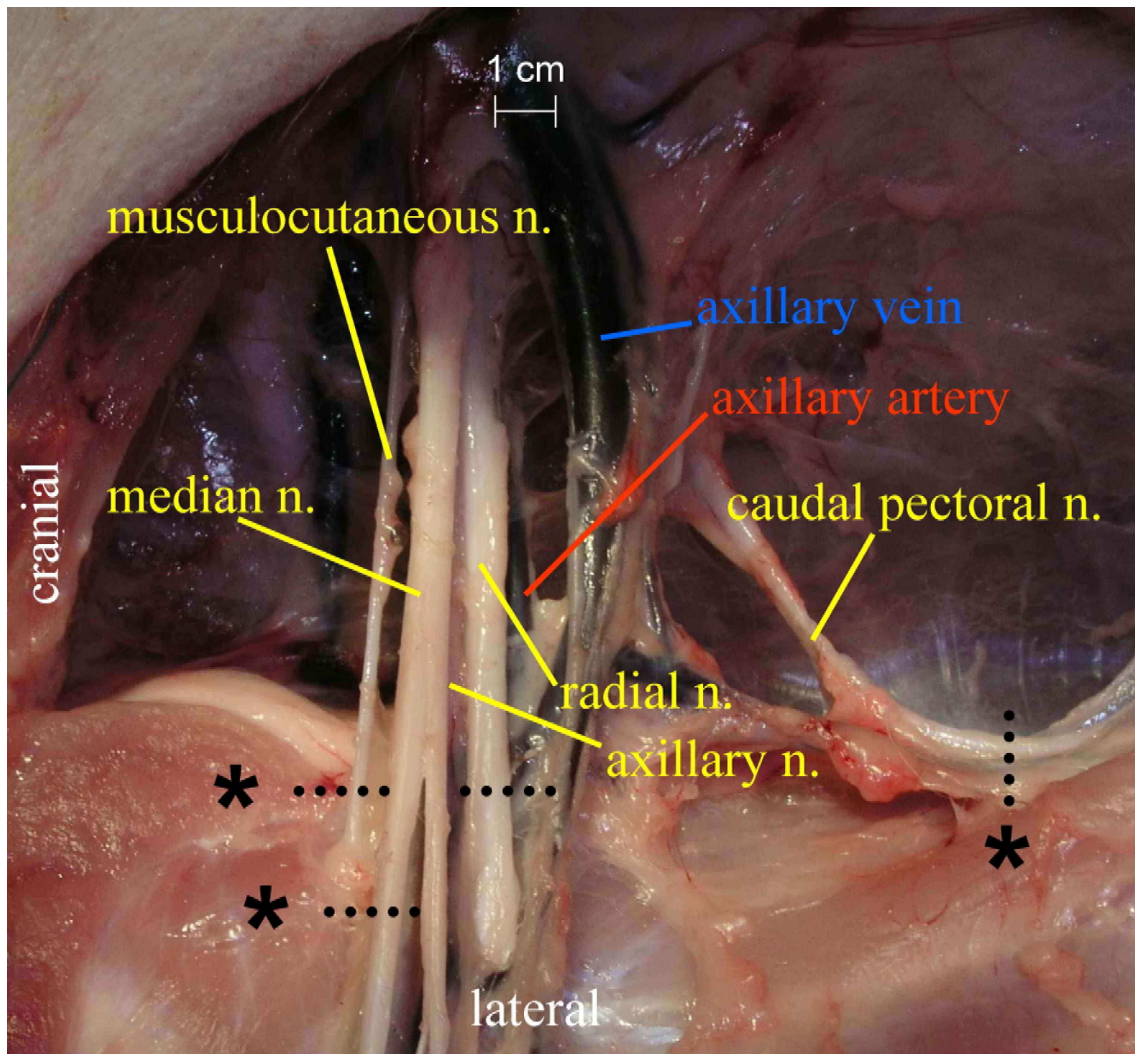


Abbildung 1 Plexus brachialis rechts des Schweines.¹⁰³ *, visuelle Referenzpunkte in Form von Nähten. Die gepunktete Linie verdeutlicht das Prinzip der orthogonalen Projektion zur Re-Identifikation der manipulierten Nervenregion. Perforiert wurden: N. medianus, N. musculocutaneus, N. radialis und N. axillaris.

1.3.2 Mikroskopische Anatomie des peripheren Nervensystems

Periphere Nerven sind gemischte Nerven, die sensorische, motorische und sympathische Faseranteile beinhalten. Der Aufbau peripherer Nerven folgt einem einheitlichen Prinzip: Kleinste funktionelle Einheit bildet das Neuron, bestehend aus dem Perikaryon, dem Zellkörper und dem Axon (Abb. 2).

Axon, der lange Fortsatz der Nervenzelle, ermöglicht den afferenten und efferenten Impulsstrom. Die Dicke der Myelinscheide und Entfernung zwischen den Ranvier-Schnürringen bestimmen die Leitungsgeschwindigkeit. Am Ende des Axons sitzt der mit Vesikeln bestückte Endkolben, der den präsynaptischen Teil einer Synapse bildet.

Schwann-Zellen bilden die, für die Isolation notwendige, Myelinscheide. Diese wird durch die Ranvier-Schnürringe unterbrochen und ermöglicht so eine saltatorische Reizleitung. Mehrere Axone und die umgebenden Schwann-Zellen bilden ein Faszikel.

Endoneurium umgibt, bestehend aus zarten Retikulinfasern, die Faszikel. Dient als mechanischer Schutz und hat Ernährungsfunktion mittels enthaltener intrinsischer Blutkapillaren.

Perineurium besteht aus 8-15 Lagen festeren Bindegewebes und fasst Gruppen von mehreren hundert Faszikeln zusammen. Es ermöglicht so die Verschieblichkeit bei Bewegung und bildet mittels Hemidesmosomen und tight junctions eine Diffusionsbarriere.

Epineurium, äußerste Schicht aus lockerem Bindegewebe und Fettzellen. Ermöglicht mechanischen Schutz und Beweglichkeit. Es hat ebenfalls eine Ernährungsfunktion durch extrinsische Blutgefäße und spielt mit den enthaltenden Mastzellen, lymphatischen Kapillaren eine immunologische Rolle.

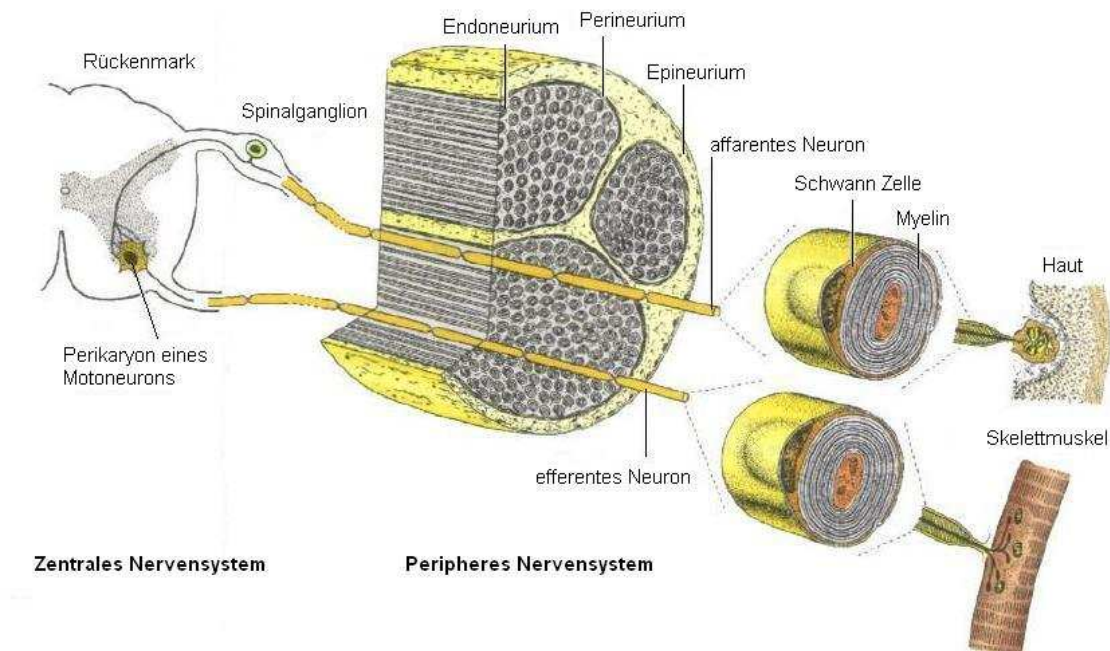


Abbildung 2 Darstellung eines gemischten peripheren Nervs. [aus: Kühnel, W. (2002), Taschenatlas Histologie, Thieme Verlag, Stuttgart]

Je weiter sich der Nerv vom Rückenmark wegbewegt, desto mehr nimmt die Härte des Epineuriums ab, wobei das Gesamtvolumen zunimmt. Der Betrag an neuronalem Gewebe bleibt konstant. Das Verhältnis von nicht neuronalem zu neuronalem Gewebe innerhalb des Epineuriums wächst also von 1:1 im proximalen Plexus auf 2:1 im distalen Plexus. Ein peripherer Nerv enthält bis zu 70% lockeren Bindegewebes.⁷⁵ Die mögliche klinische Relevanz dieser Beobachtung ist, dass eine versehentliche Punktion eines peripheren Nerven nicht direkt zu einem Nerven- genauer zu einem Faszikel-Trauma führen muss.

Die makroskopische und mikroskopische periphere Nerven-anatomie des Schweins und des Menschen sind weitestgehend vergleichbar,¹⁰⁴ so dass -verglichen mit anderen Versuchstieren wie Mäusen, Ratten und Kaninchen- von einer Übertragbarkeit der am Schwein gewonnenen Ergebnisse ausgegangen werden kann.

1.3.3 Pathophysiologie des peripheren Nerven-traumas

Pathophysiologisch lassen sich drei verschiedene Typen von Schädigungen am peripheren Nerven unterscheiden:⁷

Neuropraxie, Funktionsausfall ohne morphologisches Korrelat, milder Grad der Nervenschädigung, verminderte Nervenleitgeschwindigkeit, reversibel meist innerhalb einer Woche.

Axonotmesis, Schädigung des Axons peripherer Nerven bei erhaltener Hüllstruktur, mittlerer Grad der Nervenschädigung, häufig reversibel. Oft assoziiert mit Kompression/Traktion eines Nerven oder toxischen Substanzen z.B. im Rahmen der Regionalanästhesie. Nach ca. sechs Wochen Beginn der Regeneration mit einer Rate von 1mm/24h.

Neurotmesis, Schädigung mit kompletter Durchtrennung von Axon und Scheide (Waller-Degeneration), schwerer Grad der Nervenschädigung, meist irreversibel, mikrochirurgische Versorgung zur Verbesserung des „Outcomes“ nötig.

Kommt es zu einer Schädigung oder Entzündung des nervalen und bindegewebigen Anteils der Nerven durch unterschiedlichste Noxen, so resultiert daraus in den meisten

Fällen eine inflammatorische Reaktion, die Neuritis. In diesem Fall wird eine Vielzahl von Zellpopulationen immunologisch aktiv, wobei hier die Makrophagen und die neutrophilen Granulozyten in der Frühphase eine herausragende Bedeutung haben. Klinisch zeigen sich, in Intensität und Persistenz variabel, Hypästhesien, Parästhesien und/oder motorische Einschränkungen.

Ihren Anfang nimmt eine solche Immunreaktion mit der Aktivierung ortständiger Mastzellen,^{81,82} welche ihrerseits proinflammatorische Mediatoren wie Histamin, Heparin, Prostaglandine und Zytokine wie TNF- α und IL-1 freisetzen.^{33,73} Histamin, Prostaglandine und Leukotriene sind unter anderem für die Sensibilisierung von Nozizeptoren verantwortlich.⁶¹

Inflammatorische Zellen, welche im gesunden Nervengewebe nicht vorkommen, werden im Rahmen der Chemotaxis bereits in der Frühphase durch IL-8 angelockt und aktiviert.⁸⁴ Im Blut machen sie etwa 60% der zirkulierenden Leukozyten aus. Neutrophile Granulozyten enthalten in ihrer azurophilen Granula Zytokine, Chemokine Proteasen sowie Sauerstoffradikale, welche die Hyperalgesie verstärken und darüber hinaus auch direkt antibakteriell und proinflammatorisch wirken.^{30,108}

Makrophagen, die 2-6% der Zellen der peripheren Nerven ausmachen, werden von beiden Seiten der Läsion rekrutiert.^{39,77} Zusätzlich wandern hämatogene Monozyten ein, welche im Gewebe zu Makrophagen differenzieren.^{86,43} Aufgabe der aktivierten Makrophagen ist die Phagozytose und die Präsentation von Antigenen auf ihrer Zelloberfläche mittels ihres MHC-II Systems. Zusätzlich produzieren die Makrophagen proinflammatorische Mediatoren. Diese führen zu Endothelschäden, Verlust der Blut-Nerven-Schranke (IL-1, IL-6 und TNF- α) und zur Sensibilisierung von Nozizeptoren.^{83,22,111,88} Auch bei der Regeneration spielen Makrophagen eine wichtige Rolle durch Sekretion von wachstumsfördernden Faktoren für die Proliferation von Schwann-Zellen und Fibroblasten.⁵⁷ Zusätzlich erfolgt die Sekretion von IL-1 zur Induktion der Synthese von endoneuralem Nervenwachstumsfaktor (Endoneurial Nerve Growth Factor: ENGf).⁷⁰ Während sich am ersten posttraumatischen Tag weder eine quantitative noch eine qualitative Änderung der Zellpopulation zeigt, konnten

Müller et al. ab dem zweiten Tag nach Trauma sowohl eine Vergrößerung als auch eine Vermehrung der endoneuralen Makrophagen nachweisen.^{76,77}

Im weiteren Verlauf der Immunkaskade werden durch Antigenpräsentation B-Zellen aktiviert, die ihrerseits, nach Umwandlung in Plasmazellen, Antikörper sezernieren. T-Lymphozyten nehmen mittels Interferon- γ und TNF- α ebenfalls Einfluss auf Makrophagen.

Die traumabedingte Makrophagenakkumulation als aseptische inflammatorische Antwort 48 Stunden nach Trauma ist gemäß mehrerer Studien ein verlässlicher Marker für ein stattgefundenes Nerventrauma und Neuropathie.^{110,66,76,77} Den Daten von Mueller und Eliav zufolge kommt es bei Perforation, Dehnung und/oder Kompression von Nerven zu einer solchen aseptischen Neuroinflammation.^{26,76,77} Ein direkter Zusammenhang zwischen Größe des Traumas und Schweregrad der klinischen Symptome darf angenommen werden.²⁶

1.3.4 Die Durchführung peripherer Nervenblockaden

Ziel der regionalanästhesiologischen Verfahren ist es, die Nadel so nahe am Nerven zu platzieren, dass eine suffiziente Nerven-Blockade ausgelöst wird, jedoch nicht so nahe, dass es zur Nervenverletzung kommt. Bis vor einigen Jahrzehnten galt in der peripheren Regionalanästhesie die Auslösung von Parästhesien mit Punktionskanülen als Goldstandard zur Identifikation eines Nerven. Dieses Verfahren wurde von Patienten oftmals als sehr unangenehm empfunden und beinhaltete das hohe Risiko einer Nervenschädigung, da eine direkte Traumatisierung des Nerven durch die Nadel wahrscheinlich war.^{35,34,99} Inzwischen ist dieses Vorgehen durch das Nervenstimulationsverfahren und die Ultraschall-Technik abgelöst worden, und somit weitgehend obsolet.³⁸ Die Vorteile dieser Verfahren sind ein erhöhter Patientenkomfort, aufgrund fehlender Parästhesieauslösung,^{99,35} bei guten Erfolgsraten von 93% bzw. 97%,^{31,4} sowie die Unabhängigkeit des Verfahrens von der Kooperation des Patienten. Das Prinzip der Stimulations-Technik ist die neuromuskuläre Stimulation des entsprechenden Nerven mittels einer Stimulationskanüle und das konsekutive Aufsuchen der motorischen Reizantwort. Bei

der Ultraschall-Technik erfolgt das Aufsuchen des Nervs visuell. Ist die Zielposition nah am Zielnerv, jedoch ohne diesen zu berühren, erreicht, erfolgt die einmalige Injektion des Lokalanästhetikums („Single-Shot“ Verfahren) oder die Implementierung eines Katheters zur kontinuierlichen Applikation von Lokalanästhetika.^{23,24} Sowohl als additives, wie auch als singuläres Verfahren, kann der Zielnerv sonographisch aufgesucht werden. Sicherheit, Erfolgsrate und Patientenkomfort sollen so gesteigert und ein direktes Nadel-Nerv-Trauma vermieden werden.^{97,18,87,85} Eine kontinuierliche Überwachung der Positionen von Nerv wie Nadel ist mit dieser Methode allerdings nicht oder nur eingeschränkt möglich.⁴⁴

Einige Studien haben bei Vergleich der sonographischen Methodik mit der elektrischen Stimulation eine erhöhte Erfolgsrate beschrieben.^{55,18,101,71,96,16} In einer Metaanalyse von Koscielniak-Nielsen aus dem Jahr 2008 konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Komplikationsraten beider Verfahren festgestellt werden.⁶² Hadzic und Mitarbeiter favorisieren mittlerweile die sogenannte „Dual Guidance“-Technik also die Kombination beider Verfahren zur perineuralen Lokalanästhetikaplatzierung.⁹⁰

1.3.5 Komplikationen der peripheren Nervenblockade

1.3.5.1 Schwere systemische Komplikationen

Wie jedes medizinische Verfahren ist auch die Regionalanästhesie mit Risiken behaftet. Große Studien zum „Outcome“ nach peripheren Regionalanästhesieverfahren sind im Ergebnis uneinheitlich.^{29,102,15,32,1,2,9,13,20,21,45,65,64,68,106,48} Die Inzidenz schwerer systemischer Komplikationen ist niedrig. In einer großen Studie in Frankreich, welche 21278 Patienten einschloss, war das Auftreten schwerer Komplikationen wie Herzstillstand (0,01%), Krampfanfällen (0,08%) oder Tod (0,005%) nach akzidenteller intravasaler Lokalanästhetikaapplikation sehr selten.²

1.3.5.2 Neurologische Komplikationen

In retrospektiven Studien wird häufig zwischen irreversiblen Schäden und reversiblen Defiziten unterschieden. Die Anzahl deskriptiv-epidemiologischer wie auch klinischer Studien ist allerdings gering und wird als unzureichend beschrieben.^{3,91} Die bestehenden Daten zeigen Wahrscheinlichkeiten von <0,04%¹² bis 1%⁷ ein irreversibles

neurologisches Defizit zu erleiden. Passagere neurologische Symptome ereignen sich je nach Studie im Rahmen von 3% bis zu 50%^{12,2,7,29} aller Fälle mit mindestens einem Nebeneffekt wie Schmerzen (40%), vorübergehender Taubheit (11%) oder schmerzhaftem Druckgefühl (23%).²¹ Die Gründe für diese unterschiedlichen Zahlen sind vielfältig. Zum einen beruhen die meisten Studien auf freiwilligen Eigenangaben der jeweiligen Zentren und der unterschiedlicher Länge des neurologischen „follow-up“. Zum anderen sind die aus einer Nervenverletzung resultierenden Symptome sehr unterschiedlich und so auch in den Studien uneinheitlich definiert. Das Spektrum neurologischer Symptome reicht hier von Parästhesien, welche am häufigsten dokumentiert sind, über Hyp- und Dysästhesien bis hin zu motorischer Schwäche und Parese.^{46,17} Darüber hinaus treten viele dieser Symptome mit einer Latenz von Stunden bis Tagen nach dem regionalanästhesiologischen Eingriff auf⁹ oder werden von den Patienten im Rahmen postoperativer Schwellung, Schmerzen und Ruhigstellung erst verspätet wahrgenommen.⁶⁷ Kommt es zu einem neurologischen Schaden, präsentieren sich die Symptome in nur 21% der Fälle unmittelbar nach dem Eingriff.²⁰ Insgesamt kann die Latenz von der Intervention bis zum Auftreten von Symptomen bis zu 48 Stunden betragen.²

1.3.5.3 Ursachen neurologischer Schäden

Bei iatrogenen Nervenläsionen lassen sich die Ursachen für eine direkte Schädigung in vier Gruppen unterteilen:

1.3.5.3.1 Mechanische Schädigung des Nerven durch die Injektionsnadel

Der direkte Nadel-Nerv-Kontakt kann zu einer Traumatisierung von Nervengewebe führen. Im Rahmen der Wundheilung kommt es zu zellulärer Proliferation mit Bildung einer bindegewebigen Narbe,⁸ die mit funktionellen Defiziten einhergehen kann.¹⁷

1.3.5.3.2 Gefäßverletzung mit konsekutiver Hämatombildung im Nervenstamm

Akzidentielle perineurale Gefäßperforationen können zu konsekutiver Hämatomentwicklung vor allem innerhalb der Gefäß-Nerven-Scheide führen, was wiederum Kompression und Ischämie nach sich ziehen kann.

1.3.5.3.3 Toxische Wirkung der injizierten Substanzen

In Abhängigkeit der Konzentration und der Einwirkzeit wirken alle Lokalanästhetika neurotoxisch.^{53,54,52,51,78} Die größte therapeutische Breite wird in diesem Zusammenhang beim Einsatz von Ropivacain beschrieben.¹¹²

1.3.5.3.4 Ischämie, Kompression oder Traktion durch die applizierten Substanzen

Neben der oben beschriebenen toxischen Wirkung der Lokalanästhetika spielt auch der Injektionsdruck bei intraneuraler Injektion eine wichtige Rolle. Ein zu hoher Druck soll aufgrund der konsekutiven mechanischen Schädigung, mit einer erhöhten Komplikationsrate einher gehen.⁴¹

Es ist anzunehmen, dass diese Faktoren einzeln oder in Kombination eine Nervenschädigung verursachen können.^{46,98,99} Aber nicht nur das regionalanästhesiologische Verfahren selbst, sondern auch ein intraoperatives chirurgisches Trauma, perioperative Lagerungsschäden oder postoperative Schwellung und Entzündung sind in Betracht zu ziehende Noxen. Zumal sich die Symptome, wie bereits erwähnt, nicht zwangsläufig im direkten Anschluss an ein Trauma manifestieren müssen.⁹

In Hinblick auf die mechanischen Schädigung durch die Nadel selbst, gibt es Studien bezüglich der Kanülenspitzen-Konfiguration, Dicke der Nadel und des Anschliffwinkels, die sich allerdings hinsichtlich des primären Endpunktes und der Methodik deutlich unterscheiden (siehe Kapitel 1.3.6 Die Studienlage).

Die Idee, dass Nadelspitze und Durchmesser der Nadel Faktoren bei der Entstehung neurologischer Symptome darstellen könnten, ist nicht neu. Bereits 1928 wiesen Kulenkampf und Persky darauf hin, ein möglichst kleines Kaliber bei der Plexuspunktion zu wählen, um Verletzungen zu vermeiden.⁶³ 1954 warnte Bonica vor der möglichen Gefahr der Nervenverletzung durch die Form der Nadelspitze.⁴

Einige Arbeitsgruppen haben die Bedeutung des Einsatzes verschiedener Nadeltypen für die Entstehung von Nervenverletzungen überprüft.^{46,92,92,99,98} Die bisher publizierten Ergebnisse lassen nur eingeschränkt Aussagen zum Risiko für Nervenschädigungen zu. Nichtsdestotrotz sind für den klinischen Gebrauch Nadeln verschiedener Größe und unterschiedlichen Schliffs bzw. Konfiguration verfügbar.

1.3.6 Die Studienlage

Der Vergleich verschiedener Kanülenspitzen-Konfigurationen ist bereits seit 33 Jahren Gegenstand verschiedener Untersuchungen. Allerdings unterscheiden sich diese Studien erheblich in Fragestellung, Methodik und primärem Endpunkt:

Selander et al.⁹⁸ waren die ersten, die 1977 Untersuchungen zu Nadeltraumata im Tierversuch anstellten. Sie untersuchten die direkte (2 Stunden nach Trauma) histologische Implikation zweier Nadeln mit langem (14 Grad) und kurzem (45 Grad) Anschliffwinkel in vivo und in vitro. Für die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen am Plexus des Hasen wurde Evans-Blau benutzt, welches nach Verletzung des Perineuriums in das Endoneurium eindringt und hier zur Fluoreszenz führt. Kurze, bzw. stumpf geschliffene Nadeln verursachten seltener einen Faszikelschaden als lang geschliffene 14 Grad Nadeln, besonders, wenn der Schliff parallel zum Nervenfaserverlauf eingebracht wurde. Der Schweregrad der Nervenschäden war aber bei kurz geschliffenen Nadeln größer. Die stumpfen Nadeln schoben, so die Autoren, die Nerven eher beiseite als diese zu penetrieren und sollten daher in der klinischen Routine Verwendung finden.

1990 untersuchten **Hirasawa et al.**⁴⁶ die auf verschiedene Injektionsnadeln zurückzuführende mechanische periphere Nervenläsionen morphologisch (mittels Fluoreszenzmikroskopie) und elektrophysiologisch. Als Nadeln dienten hier lang und kurz angeschliffene Injektionsnadeln je quer und längs zum Nervenfaserverlauf sowie eine Kanüle nach Sprotte. Im Ergebnis korrelieren Elektrophysiologie und Mikroskopie miteinander und ergaben, dass die Verletzung der Nervenfaszikel bei vorne spitz zulaufender Nadel mit Trokar und seitlicher Nadelöffnung (Pencil-Point Kanüle) geringer ist, als bei Gebrauch von lang oder kurz angeschliffenen Injektionsnadeln.

1992 wurden von **Rice und McMahon**⁹² Nerven von Ratten mit spitz- und stumpfwinkligen Nadeln in vivo direkt traumatisiert und nach einem Zeitraum von 0, 7 und 28 Tagen lichtmikroskopisch, elektrophysiologisch und mittels Fluoreszenzmikroskopie untersucht. Die kurz (stumpf) angeschliffene Nadel verursachte ein größeres Trauma, als die lang (spitz) geschliffene Nadel. Zur Ermittlung

der Schwere des Traumas wurde ein Score benutzt. Nach 28 Tagen waren alle Verletzungen, verursacht von der lang angeschliffenen Nadel, rückläufig und die Score-Werte signifikant niedriger, als dies bei kurz angeschliffenen Nadel der Fall war.

Die oben genannte Methode von **Rice et al.**⁹², langfristig die histologische und funktionelle Manifestation von Nervenschäden zu evaluieren, ist klinisch als relevanter zu werten, als dies bei **Selander et al.**⁸⁰ der Fall ist.

Reina et al.⁸⁹ perforierten humane Ischiadicus Nerven in vitro mit stumpf und spitz angeschliffenen Nadeln. Die stumpf angeschliffenen Nadeln setzte hier ein optisch größeres Trauma.

Die Arbeitsgruppe um **Steinfeldt et al.**¹⁰³ verglich mit der gleichen Methodik wie in der vorliegenden Studie den Nervenschaden bei Perforation peripherer Nerven in Abhängigkeit des Nadeldurchmessers, wobei die Nadel mit dem größeren Durchmesser (19G, Pencil-Point) einen signifikant stärkeren Schaden verursachte als die Nadel mit dem kleineren Durchmesser (24G, ebenfalls Pencil-Point).

Die Ergebnisse oben genannter Studien sind keineswegs einheitlich. Belegen einige Studien den Nutzen spitz angeschliffener Nadeln,^{89,92} preisen andere Publikationen wiederum die Vorteile von stumpf geschliffenen Nadeln.^{46,98} Insgesamt ist allen Studien gemein, dass jeweils nur eine geringe Anzahl an Nerven untersucht wurde. Lediglich drei der oben genannten Studien nutzten ein Score-System, um die strukturelle Schwere von Nervenschäden zu evaluieren.^{46,92,103}

Der Weg der Funktionsprüfung wurde vor allem in retrospektiven klinischen Studien beschritten und bewertete die Symptome nach angenommener Perforation.¹² Angenommen deshalb, da der eigentliche Schaden am Nerv selbst weder objektiviert noch verifiziert werden konnte. Funktionelle Defizite -wie sie im klinischen Alltag auftreten- sind größtenteils multifaktoriell bedingt (siehe 1.3.5.3. Ursachen neurologischer Schäden). Die Isolation einer Einflussgröße als Ursache eines funktionellen Defizits im klinischen Alltag ist oft nicht möglich.⁹¹

Neben der funktionellen Überprüfung, wurden in einigen klinischen Studien Untersuchungen der Nervenleitgeschwindigkeit nach Nervenstrauma durchgeführt. **Borgeat et al.** beschrieben allerdings, dass bei Patienten mit persistierender klinischer Symptomatik Nervenleitgeschwindigkeit und Elektromyographie nicht zwangsläufig pathologisch verändert sein müssen.⁹ Als eine weitere Möglichkeit können Nervenschäden histologisch durch mikroskopische Untersuchung beurteilt werden. Eine hierbei auftretende Limitation ist in einigen Studien die fehlende Einteilung in Schweregrade des Nervenschadens.¹² Außerdem ist die Differenzierung zwischen einem Trauma durch die Kanüle und Schnittartefakt nicht immer eindeutig. Als grundsätzliche Limitation der histologischen Evaluation sollte außerdem erwähnt sein, dass die klinische Relevanz histologischer Schäden bisher unsicher ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde anhand eines histologischen Scores der Schweregrad struktureller Schäden beurteilt. Der hierfür entwickelte histologische Trauma-Score basiert zum einen auf dem direkten Schaden, der durch das Nadel-Nerv-Trauma entstanden ist, und zusätzlich auf der konsekutiven posttraumatischen aseptischen Inflammation.^{26,76,77} Mit dieser Methodik konnte eine Differenzierung von methodikbedingten Artefakten und traumaassoziierten Schäden gewährleistet werden.

Die Anwendung des histologischen Trauma-Scores eignet sich nicht nur für die Vergleichbarkeit von Nadel-Nerv-Traumata, sondern ist darüber hinaus auch für die Beurteilung von Nervenschäden anderer Genese (z.B. chemisch durch Lokalanästhetika) als methodisches Instrument einzusetzen.

1.4 Fragestellung

Die periphere Regionalanästhesie im Rahmen von kontinuierlichen Katheterv Verfahren hat einen hohen Stellenwert in der postoperativen Schmerztherapie.¹⁰⁰ Zum Platzieren des Katheters muss eine Nadel nahe am Zielnerv positioniert werden, um den Katheter über diese Nadel vorschieben zu können. Hierfür ist im Vergleich zur „Single-Shot“ Technik ein deutlich größerer Nadeldurchmesser erforderlich, muss durch diese der Katheter noch in die beabsichtigte Position vorgeschoben werden. Experimentelle Daten haben gezeigt, dass ein struktureller

Nervenschaden durch eine Nadel-Nerv-Perforation direkt mit dem Durchmesser der verwendeten Nadel assoziiert ist.¹⁰³ Der Markt bietet verschieden Nadeltypen und Konfigurationen der Nadelspitzen an. Vor allem Pencil-Point und Tuohy Nadeln finden im klinischen Alltag weite Verbreitung.

Hirasawa et al. beschrieben einen geringeren Nerven-Schaden bei Verwendung einer Pencil-Point Nadel, verglichen mit einer lang oder kurz angeschliffen Nadel.⁴⁶ Ob in diesem Zusammenhang eine Überlegenheit der Pencil-Point Nadel gegenüber der Tuohy Nadel besteht, ist nicht bekannt.

Ziel dieser Arbeit war die Überprüfung der Hypothese, dass die Nadel-Nerv-Perforation mit einer Pencil-Point Nadel einen geringeren Schaden verursacht als jene mit einer Tuohy-konfigurierten Nadel. Primärer Endpunkt war ein etablierter Score, der Anwesenheit und Stärke posttraumatischer Inflammation, Auftreten intraneuraler Hämatome und Myelinschäden berücksichtigt.¹⁰³

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

2.1.1 *Das Schwein als Modell*

Das porcine Modell eignet sich aufgrund seines vergleichbaren anatomischen Maßstabes, sowie des ähnlichen Immunsystems besser als üblicherweise genutzte Labortiere -wie z.B. Ratten, Mäuse oder Kaninchen- für die zu beantwortende Fragestellung. Eine Nervenentnahme und die Durchführung histologischer Untersuchungen, um potentielle Nervenschädigungen nachzuweisen, wären im Rahmen klinischer Untersuchungen am Menschen ethisch nicht vertretbar. Die Durchführung der Versuche erfolgte mit der Genehmigung des Regierungspräsidiums Giessen (Ref: 50/2007, Hessen, Deutschland) und gemäß den Helsinki Konventionen (Helsinki conventions for the use and care of animals).

2.1.2 *Art und Haltung der Versuchstiere*

Es wurden sechs weibliche Mastschweine der Rasse Deutsches Landschwein (*Sus scrofa domesticus*) mit einem Gewicht von 34-51 kg (Durchschnitt 41 kg) als Versuchstiere eingesetzt. Die Präferenz für weibliche Tiere begründet sich in der günstigeren Anatomie der ableitenden Harnwege hinsichtlich der geplanten suprapubischen Harnableitung.

Die Schweine wurden eine Woche vor Operationsbeginn in die Tierversuchsanlage der Universität Marburg gebracht und dort während der Eingewöhnungsphase zu zweit in Boxen im Inneren der Anlage gehalten. Als Futter wurde standardisiertes Ferkelfutter (Typ Raiffeisen Hessen) bis 14 Stunden vor OP Beginn und Wasser ad libitum bis zum Vorabend der OP gereicht.

2.1.3 *Ein-/Ausschlusskriterien*

Es kamen nur solche Schweine zur Nutzung, die durch ihren Habitus und ihr Verhalten einen gesunden Eindruck vermittelten.

2.2 Die Nadeln

2.2.1 Die Nadel nach Tuohy

Isolierte Plexusblockade Kanüle 18Gx80mm

(Arrow Deutschland GmbH, 85435 Erding, Germany)

Bestandteil des Stimucath™

Continuous Nerve Block Set

Artikel Nummer: AB-20608-S



Abbildung 3 Kanüle mit Tuohy Schliff [Quelle: s. Abb. Verzeichnis]

Die an der Spitze stumpfe Kanüle (Abb. 3, 5) besitzt eine laterale Öffnung, die bereits apikal beginnt. Als Material wird medizinischer Stahl eingesetzt. In der Seitenansicht verjüngt sich die Spitze leicht asymmetrisch. Über die gesamte Länge ist eine Zentimetermarkierung aufgebracht. Am proximalen Ende ist der Konus (Luer-Lock) transparent. Die Tuohy Kanüle wird seit 1944 sowohl für „Single-Shot“ Techniken als auch für Katheter-Verfahren in der Epidural- und in der Plexusanästhesie verwendet.

2.2.2 Die atraumatische Pencil-Point Nadel

PlexoLong NanoLine Sprötze Kanüle 19Gx60mm

(Pajunk GmbH, 78187 Geisingen, Germany)

Bestandteil des StimuLong NanoLine

Plexus Katheter Set – PlexoLong

Referenz Nummer: 531156-32B



Abbildung 4 Kanüle mit Pencil-Point-Schliff [Quelle: s. Abb. Verzeichnis]

Die ebenfalls an der Spitze stumpfe Kanüle (Abb. 4, 5) besteht aus mehrfachgezogenem V 2 A-Stahlrohr DIN Nr. 2463. Die Kanülenspitze entspricht einem geschlossenen und schlanken Kreiskegel. In Längsrichtung des Kanülenschaftes ist eine seitliche Öffnung eingeschliffen, deren Tiefe bis knapp zur Hälfte des Kanülendurchmessers reicht und deren Querschnitt größer ist als das Innenlumen der Kanüle. Eine Zentimetermarkierung ist auf dem Kanülenschaft aufgebracht.

Diese Kanüle findet ihre Anwendung als Spinal- und Periduralkanüle, sowie als Kanüle für Plexus- und periphere Leitungsanästhesie im Rahmen von „Single-Shot“ oder Katheterv Verfahren.



Abbildung 5 Die verwendeten Nadeltypen in der Übersicht: **a** Pencil-Point Kanüle, **b** Tuohy Kanüle

2.3 Versuchsdurchführung

2.3.1 Anästhesieeinleitung

Die Einleitung der Allgemeinanästhesie erfolgte durch die intravenöse Gabe von $0,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ Sufentanil (Sufenta[®], Jannssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) und $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ Propofol (Propofol 2% MCT[®], Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg v.d.H., Deutschland), worauf sich die initiale, temporäre Atemwegssicherung mit einem Endotrachealtubus mit Cuff der Größen 5 oder 5,5 mm Innendurchmesser (Rüschelit[®], Rüsch Medical GmbH, Kernen i.R., Deutschland) in Bauchlage durchführen ließ. Im Anschluss erfolgten die Verifikation der Tubuslage und die kontrollierte Beatmung (IPPV). Im gesamten Verlauf wurden keine Muskelrelaxantien verwendet.

Zur Durchführung einer suffizienten Bronchialtoilette bei einer Beatmungszeit von mehr als 24 Stunden wurden die Versuchstiere nach der Einleitung tracheotomiert und

ein gekürzter Endotrachealtubus der Größe 7,5 mm Innendurchmesser mit Cuff (Rüschelit®, Rüsch Medical GmbH, Kernen i.R., Deutschland) platziert. Zur Tracheotomie wurde die Trachea ca. 2 cm unterhalb des Schildknorpels chirurgisch dargestellt, eröffnet und der modifizierte Tubus eingeführt, geblockt und doppelt nahtfixiert. Ebenso erfolgte die offene Applikation eines zentralen Venenkatheters Größe 7 French x 30 cm (viellumiger Polyurethran Venenverweilkatheter, Arrow Deutschland GmbH, Erding, Deutschland) in die Vena jugularis interna, um eine adäquate Volumentherapie betreiben zu können. Sämtliche Maßnahmen geschahen unter aseptischen Bedingungen.

Die Narkose wurde bis Operationsende mit kontinuierlicher Verabreichung von $0,5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ Sufentanil und $0,2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ Propofol ohne Muskelrelaxantien und unter volumenkontrollierter Beatmung (Sulla 808 V, Dräger AG, Lübeck, Deutschland) fortgeführt.

2.3.2 Versuchsgruppen

Nadelgruppen

Intervention: Nadel-Nerv-Perforation

Pencil-Point Gruppe	vermeintlich „atraumatische“ Kanüle
Tuohy Gruppe	bisher ungeprüfte Kanüle

Kontrollgruppen

Negativkontrolle Plexus brachialis	Kontrolle des chirurgischen Traumas als Einflussgröße auf die entnommenen Nervenproben <i>=keine Intervention</i>
Negativkontrolle N. ischiadicus	Kontrolle systemischer Einflussgrößen wie systemische Infektion/ Einfluss von Medikamenten (Antibiotika/Hypnotika) <i>=keine Intervention</i>
Positivkontrolle N. tibialis	Kontrolle des verwendeten Scores durch Überprüfung des maximalen Traumas (Ligatur) <i>=maximales Trauma</i>

2.3.3 Präparation der Nerven

Die Lagerung der Schweine erfolgte in Rückenlage auf dem Operationstisch, wobei die oberen Extremitäten in leichter Abduktionsstellung fixiert wurden, um das Operationsfeld zugänglich zu machen. Der Axillarbereich wurde gereinigt, desinfiziert (Braunovidon[®], B. Braun AG, Melsungen, Deutschland) und steril abgedeckt.

Die Region axillares wurden chirurgisch-operativ durch eine ca. 15 cm lange craniocaudale Inzision auf Höhe der vorderen Axillarlinie unter aseptischen Bedingungen eröffnet. Unter sorgfältiger Blutstillung wurden die einzelnen Schichten präpariert, die kreuzende V. cephalica ligiert und durchtrennt. Zur Darstellung des Plexus brachialis wurden bei Bedarf Teile des M. pectoralis reseziert. Hierbei wurde darauf geachtet, in unmittelbarer Umgebung der einzelnen Nerven atraumatisch zu präparieren, um eine akzidentelle Traumatisierung zu vermeiden. Ein ähnliches Vorgehen erfolgte am Unterschenkel der Tiere, um den N. tibialis frei zu präparieren.

2.3.4 Perforation

Die Perforation erfolgte am freiliegenden Nerven des axillären Plexus. Die Auswahl des Nadeltypes und die jeweilige Seite des Plexus waren randomisiert (randomizer.org). Pro Seite erfolgten vier Perforationen mit der jeweiligen Kanüle am N. radialis, N. axillaris, N. musculocutaneus sowie am N. medianus. Die eigentliche Perforation erfolgte im 90 Grad Winkel zum Nervenfaserverlauf. Die Nadeln wurden langsam vorwärts geschoben, bis sie den jeweiligen Nerv vollständig perforiert hatten und die Kanülen dann für 40 Sekunden in dieser Position belassen. Diese Dauer wurde gewählt, da in der täglichen Praxis eine ähnliche Zeitspanne von der Nadelpositionierung bis zur Injektion von Lokalanästhetika angenommen werden darf. Im Anschluss an die Perforation wurden die Nadeln vorsichtig zurückgezogen.

Als Kontrolle für ein schweres Trauma wurde eine Nervenligatur am linken N. tibialis angebracht (Positivkontrolle).

Pro Seite diente ein Nerv der Axilla (der caudale N. pectoralis) sowie der linke N. ischiadicus als Negativkontrolle und wurde nicht manipuliert. Der N. ischiadicus diente als Nervengewebe, welches weder durch chirurgische Manipulation noch durch Perforation beeinflusst war, so dass hierdurch andere Variablen hinsichtlich einer

Neuroinflammation wie z.B. systemische Inflammation, chirurgische Intervention, Anästhesie, Antibiotikatherapie oder andere Interventionen identifiziert werden können. Der N. tibialis wurde als Positivprobe -repräsentativ für ein „Maximaltrauma“-ligiert.

Um den Ort der Perforation bei der Entnahme wieder finden zu können, wurden in ausreichendem Abstand zum eigentlichen Punktionsort Ligaturen angebracht, die eine „Re-Identifikation“ der Kanülenpositionen mittels Orthogonalverfahren ermöglichten. Zusätzlich erfolgte eine photographische Dokumentation des OP Feldes.

Nach Abschluss der Interventionen an den Nerven wurden die Regiones axillares, mit einer mehrschichtigen Wundnaht verschlossen und eine sterile Wundabdeckung vorgenommen.

2.3.5 Anästhesie

Um einen geregelten Harnabfluss gewährleisten zu können, erfolgte die Anlage eines suprapupischen Harnblasenkatheters Größe 10 Charrier (Cystofix®, B.Braun AG, Melsungen, Deutschland). Im Verlauf erfolgte die druckkontrollierte Beatmung (Servo Ventilator 200, Siemens AG, München, Deutschland), wobei die Tiere normoventiliert wurden ($\text{etCO}_2 = 35\text{--}45 \text{ mmHg}$) und sich die Beatmungsparameter an den erhobenen Messwerten (SpO_2 , etCO_2 , AMV und PAW) sowie an der individuellen Physiologie der Tiere orientierten. Des Weiteren erfolgte die intensivmedizinische Betreuung, Überwachung (EKG, SpO_2 , etCO_2 und Temperatur) und Bilanzierung der in Seitenlage befindlichen Tiere. Die Tiere wurden alle 8 Stunden gewendet und die Lungen mittels Lachmann-Manöver gebläht. Die Analgosedierung wurde aufrechterhalten mit Sufentanil (Maximum $0,3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und Propofol (Maximum $0,2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$). Um eine Infektionsprophylaxe zu gewährleisten, wurde in der postoperativen Phase $80 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ eines Breitband-Cephalosporin der 2. Generation (Cefuroxim®, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg v.d.H., Deutschland) zentralvenös appliziert. Die Volumensubstitution erfolgte mit Ringer-Lactat Lösung $3\text{--}5 \text{ ml kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Die Körpertemperatur wurde kontinuierlich zentral gemessen und mit Wärmedecken (Bair Hugger® Modell 540, Arizant Healthcare Inc., Eden Prairie, USA) zwischen $38 - 40^\circ \text{ C}$ Körperkerntemperatur gehalten.

2.3.6 Ausbau und Fixation der Nerven

48 Stunden nach der Nerventrauma-Simulation erfolgte die Wiedereröffnung der Regiones axillares und die Entnahme der perforierten Nerven, sowie der Negativ- und Positiv-Kontrollen in vivo. Die Identifikation der Nerven erfolgte mit Hilfe der Photographien und der Navigationsligaturen. Zusätzlich wurde die Glutealregion eröffnet und ein N. ischiadicus als zweite systemische Negativkontrolle (s.o.) entnommen. Die Nerven wurden im Abstand von einem Zentimeter proximal und distal der Kanülen-Platzierungsstelle ligiert und außerhalb der Ligaturen abgesetzt (Abb. 6). Unmittelbar nach der Entnahme wurden die jeweiligen Nerven (Länge 1-1,5 cm) mit einem Holzstäbchen geschient, um eine Kontraktur zu verhindern und für 48 Stunden in vierprozentiger Formaldehydlösung fixiert.



Abbildung 6 Fixiertes Nervenresektat mit sichtbarer Punktionsstelle *

2.3.7 Versuchsende

Am Versuchsende wurden Tiere in tiefer Allgemeinanästhesie durch eine letale Dosis von 4 mmol kg^{-1} Kaliumchlorid getötet. Post mortem erfolgte die Entfernung des alloplastischen Materials und die fachgerechte Entsorgung der Tierkörper.

2.4 Histologische Methoden

2.4.1 Vorbereitung und Schneiden der Proben

Die fixierten Nerven wurden unmittelbar vor dem Einbetten in Paraffin von dem Holzstäbchen getrennt und anschließend manuell in Paraffin eingebettet. Nach Aushärtung der Paraffinblöcke auf der Kühlplatte der Einbettungsstation (Tissue-Tek TEC5, Sakura Finetek GmbH, Heppenheim, Deutschland) waren diese auf dem Kassettenboden für die Weiterverarbeitung fixiert.

Mittels Rotationsmikrotom (HM 355 S, Microm International GmbH, Walldorf, Deutschland) wurden die Nerven in Längsrichtung in 7 µm dicke Gewebeschnitte geschnitten und auf Objektträger aufgezogen. Zur Anwendung kamen zwei Typen von Objektträgern: Standard Objektträger (Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Deutschland) für die HE-Färbung und Superfrost® Plus Objektträger (Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Deutschland) für die immunhistochemischen Färbungen. In Schnittfolge wurden zwei 7 µm Gewebeschnitte auf Standard Objektträger aufgezogen, die folgenden vier auf Superfrost® Plus Objektträger für die immunhistochemischen Färbungen und im Folgenden wieder zwei auf Standard Objektträger. Dieser Zyklus wurde während des gesamten Schneidens durchgeführt, wobei zwischen den Zyklen jeweils drei 7 µm Gewebeschnitte verworfen wurden. Im Anschluss erfolgte das Trocknen im Heizschrank für 12 Stunden bei 60 °C. Die Objektträger wurden durch randomisierte Zahlenfolgen (vierstellig) verblindet.

2.4.2 Hämatoxylin-Eosin Färbung

Hämatoxylin beziehungsweise sein basisches Derivat Hämalan färbt alle sauren, basophilen Strukturen blau, insbesondere Zellkerne mit der darin enthaltenen Desoxyribonukleinsäure (DNA) sowie das raue endoplasmatische Retikulum (rER). Eosin färbt als saurer Farbstoff alle azidophilen, basischen (eosinophilen) Strukturen rot, was in erster Linie die Zellplasmae Proteine umfasst.

Eine auf Objektträger aufgezogene Probe wurde wie im Färbeprotokoll beschrieben durch einen Linear Färbearomat (COT 20, Medite GmbH, Burgdorf, Deutschland) mit Hämatoxylin-Eosin (HE) nach Mayer (Merck KG, Darmstadt, Deutschland) gefärbt.

Hierzu wurden die Objektträger für die unten angegebene Zeit in die jeweiligen Färbebecken getaucht.

Färbeprotokoll HE-Färbung:

- Xylol	3 Minuten
- Alkohol 100%	2 Minuten
- Alkohol 96%	1 Minute
- Aqua dest.	1 Minute
- Hämalan	4 Minuten
- Aqua dest.	2 Minuten
- Eosin	3 Minuten
- Alkohol 96%	2 Minuten
- Alkohol 100%	2 Minuten
- Xylol	2 Minuten

Zum Schluss erfolgte das Auflegen eines Deckglases (Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Deutschland) durch einen Eindeckautomaten (RCM 2000, Medite GmbH, Burgdorf, Deutschland).

2.4.3 Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera

Die Klüver-Barrera Färbung ist eine Markscheidenfärbungen und beinhaltet die Färbemethode Luxol-Fast-Blue (Luxolblau, Luxol-Echtblau). Sie beruht auf einer Anfärbung der Markscheide mit einem basischen Kupferkomplex (Kupfer-Phtalozyanin). Dieser Farbstoff ist ein dem Chlorophyll ähnliches Ringmolekül und lagert sich spezifisch an das Neurokeratingerüst an.

Markscheiden werden leuchtend blau gefärbt, der Hintergrund blass grün. Die Zellkerne stellen sich in dieser Färbung dunkelblau dar.

Färbeprotokoll Markscheiden-Färbung:

- Entparaffinieren	
- Spülung mit Ethanol 96 %	10 Minuten

- Inkubation in Luxollösung ¹ bei 56 °C	120	Minuten
- Rehydrieren	10	Minuten
- Spülung mit Natronlauge 0,01%	5-10	Minuten
- Spülung mit Aqua dest.	1	Minute
- Gegenfärben mit Kresylviolett ² bei 56 °C	6	Minuten
- Dehydrieren	3-5	Minuten
- Spülung mit Xylol		

1) Luxolechtblaulösung: 0,13 g Luxolechtblau werden in 10 ml 10%iger Essigsäure gelöst, dann werden 190 ml 96%iger Ethanol zugefügt.

2) Kresylechtviolettlösung: 0,1 g Kresylechtviolett werden in 100 ml Aqua dest. gelöst und 20 Tropfen 10%ige Essigsäure zugegeben.

2.4.4 Immunhistochemische-CD68-Färbung

2.4.4.1 Grundlagen

CD68 ist ein hochglykosyliertes Membranprotein mit einem Molekulargewicht von 110 Kilo-Dalton, welches in Lysosomen und Phagosomen im Zytoplasma von Makrophagen vorkommt. Der Antikörper des Klon PG-M1 wurde auf dem fünften "International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Boston 1993)" vorgestellt und als ausreichend mit dem korrespondierenden COS-Transfektanten reagierend anerkannt. Der spezifische Primärantikörper bindet an dem CD68-Oberflächenbestandteil der Makrophagen. In einem zweiten Schritt wird ein Sekundärantikörper aufgetragen, der sich gegen den Primärantikörper richtet und mit einem Enzym gekoppelt ist. In einer Enzym-Substrat-Reaktion wird das vorher fast farblose Chromogen zu seinem bräunlichen Endprodukt oxidiert und markiert so die Makrophagen.

Für den quantitativen Nachweis perivaskulärer und perineuraler Makrophagen wurden die CD-68 Antikörper eingesetzt. Dies ermöglichte, Makrophagen von den zahlreich vorhanden anderen Leukozyten, wie z. B. neutrophilen Granulozyten, zu differenzieren.

Der Nachweis beruht auf der Affinität von Antikörpern zu einer bestimmten Gewebeeigenschaft in Form einer Antigen-Antikörper-Reaktion (Abb. 7). Diese Reaktion lässt sich nach entsprechender Vorbehandlung, einer sogenannten

Demaskierung, in formalin-fixiertem, paraffin-eingebettetem (FFPE) Gewebe nachweisen.

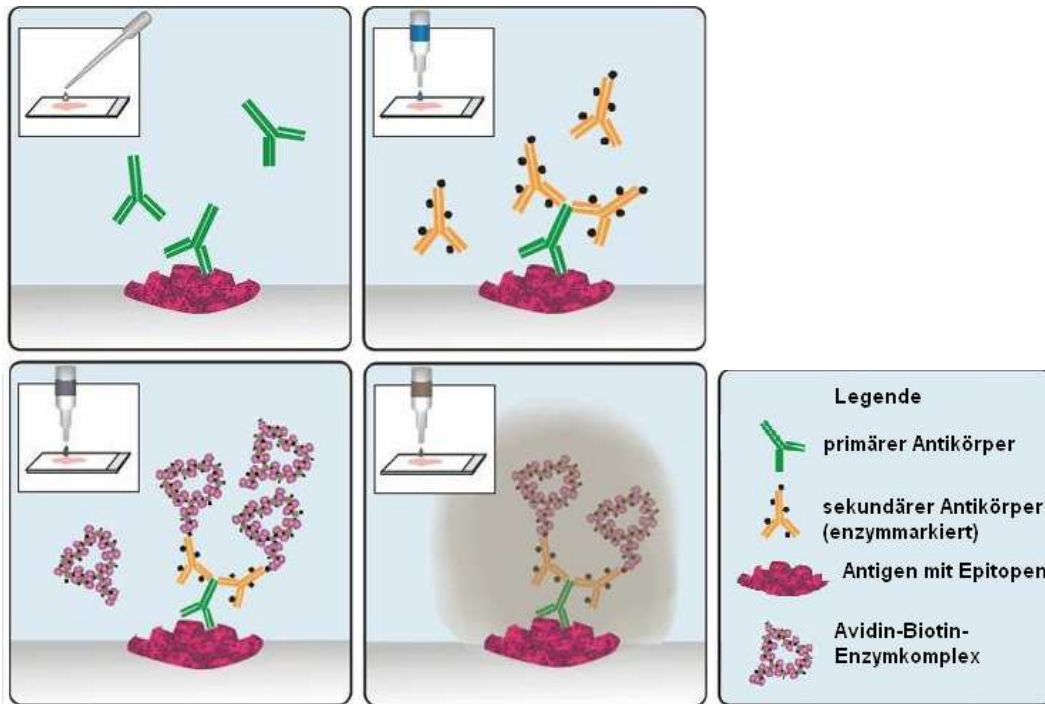


Abbildung 7 Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion [aus: Produktbeschreibung der Firma Biokom, Warschau]

Als Protein unterliegt der Antikörper der Beeinflussung durch pH-Wert und Salzkonzentration in der Lösung. Zur Optimierung des Reaktionsmilieus werden Pufferlösungen verwendet (sowohl als Verdünnungslösung und als auch bei Spülungen): PBS (= Phosphate-Buffered-Saline) und Tris-Puffer (=TBS)

Im Idealfall kommt es zu einer spezifischen und starken Bindung zwischen Antikörper und Epitop am Gewebeschnitt. Der Antikörper ist mit einem Detektionssystem versehen, welches eine Positivkontrolle ermöglicht.

2.4.4.2 Peroxidasehemmung

Die Farbstoffentwicklung bei den immunologischen Tests erfolgt durch Chromogenumsetzung mittels Enzym. Eine eindeutige Aussage liegt nur dann vor, wenn ausschließlich das durch das Detektionssystem zugeführte Enzym dafür verantwortlich ist. Ein so genanntes endogenes Enzym führt zu „falsch-positiven“

Reaktionen. Deshalb muss dieses mittels einer Vorbehandlung blockiert und so inaktiviert werden. Die endogene Peroxidaseaktivität wird aufgrund einer Substratzugabe im Überschuss kompetitiv gehemmt. Die Hemmung erfolgt vor der Immunreaktion. An Erythrozyten im Gewebeschnitt kann man die erfolgreiche Blockierung überprüfen. Verwendet wird 0,6% Wasserstoffperoxidlösung in Methanol.

2.4.4.3 ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex)

Als Detektionssystem diene die ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex). Hierbei wird ein, gegen das nachzuweisende Epitop gerichteter, Primärantikörper in einem zweiten Arbeitsschritt mit einem biotinylierten Sekundärantikörper (Brückenantikörper) inkubiert. Zur Signalamplifikation wird der Biotin tragende Fc-Teil des Sekundärantikörpers mit einem Avidin-Biotin-Komplex versehen. Es bildet sich eine makromolekulare Struktur, die als Enzymkomplex/-konjugat Peroxidase gebunden hat. Als chromogenes Enzym dient Meerrettichperoxidase (horseradish peroxidase, HRP) in Kombination mit dem gebräuchlichsten Chromogen DAB (Diaminobenzidintetrahydrochlorid). Das Chromogen wird durch Wasserstoffperoxid (Substrat) unter der katalytischen Wirkung von HRP schnell in eine farbige Substanz umgesetzt. Der Vorteil dieser Methode liegt in der größeren Zahl an Markern, die hierdurch an den Ort des Antigens gebracht werden können. Das Farbergebnis ist ein unlösliches, stabiles, braunes Endprodukt am Ort der Reaktion und damit am Ort des Antigens. Die Positivkontrolle erfolgt durch einen Referenzschnitt, welcher das gesuchte Antigen enthält.

2.4.4.4 Färbeprotokoll (Übersicht)

Färbeprotokoll CD68-Antikörper-Färbung:

- Entparaffinieren und Rehydrieren	20	Minuten
- Blockierung der endogenen Peroxidase	30	Minuten
- Trypsinierung zur Demaskierung der Antigene	15	Minuten
- Spülung mit Aqua dest.	2	Minuten
- Spülung mit PBS ¹	5	Minuten
- Inkubation mit Primärantikörper bei 37 °C	60	Minuten
- Spülung mit gepufferter Waschlösung ²	5	Minuten
- Inkubation mit Sekundärantikörper	30	Minuten

- Spülung mit gepufferter Waschlösung ²	5	Minuten
- Inkubation mit Avidin-Biotin-Complex	30	Minuten
- Spülung mit PBS ¹	5	Minuten
- Inkubation mit DAB-Substratlösung ³	5-10	Minuten
- Spülung in Aqua dest.	3	Minuten
- Gegenfärbung in Hämalun	1	Minute
- Bläuen	2	Minuten
- Dehydrieren	3-5	Minuten

1) *Phosphate-Buffered-Saline*

2) *Clearinreagents*

3) *Diaminobenzidintetrahydrochlorid*

2.5 Auswertung

Bei jedem Nerven begann die histologische Analyse mit dem Aufsuchen des Punktionsareals in der HE-Färbung, welches durch eine umschriebene Ansammlung von Leukozyten, Hämatomen mit Einwanderung von inflammatorischen Zellen oder struktureller Zerstörung der Nervenfasern charakterisiert war. Im Bereich des Punktionsareals wurde die Stelle mit der stärksten Immunreaktion oder der Kombination aus Immunreaktion und Hämatom als Punktionsstelle erfasst. Die benachbarten vier Nervenschnitte beider Richtungen wurden alternierend CD68- oder myelinspezifisch gefärbt.

Myelinschäden, das heißt die Differenzierung zwischen vitalem und avitalem Myelin, erfolgte durch die Myelinfärbung. Die Identifikation von Makrophagen und Monozyten, den charakteristischen Zielzellen der Neuroinflammation, erfolgte mittels der CD68-Färbung. Die gesamte Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch (Olympus BX 51, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland) in 100, 200 und 400-facher Vergrößerung.

Leukozyten lassen sich in der HE-Färbung gut von Zellen des Bindegewebes (Endothelzellen, Fibroblasten), Nervenzellen und Erythrozyten unterscheiden. Sie imponieren im Lichtmikroskop durch ihre hohe Kern-Plasma Relation und relative Größe im Vergleich zu anderen Zellen. Die genaue Klassifikation der zu sehenden

Leukozyten in Monozyten, Lymphozyten oder Makrophagen ist lichtmikroskopisch nur bedingt möglich und lässt sich wesentlich sicherer über eine immunhistochemische Markierung spezifischer Oberflächenantigene (Cluster of Differentiation) erreichen. Mit der immunhistochemischen Färbung wurden die Makrophagen selektiv angefärbt. Zum Zweck der Graduierung des Nervenraumas wurde ein Trauma-Score in Anlehnung an Hirata et al.⁴⁷ entwickelt (siehe Kapitel 2.5.1 Der histologische Trauma-Score). Unter Anwendung des Scores wurde pro Nervenschnitt ein Score-Wert zwischen 0 und 4 vergeben. Sämtliche Ergebnisse wurden durch zwei weitere doppelt verblindete, in der Auswertung geschulte Personen reevaluiert. Diskordante Ergebnisse von mehr als einen Score-Wert Differenz wurden diskutiert. Bei fortbestehender Uneinigkeit wurde die gültige Graduierung durch einen Pathologen festgelegt. Die so durchgeführte Anwendung des histologischen Trauma-Scores ermöglichte eine weitgehend anwenderunabhängige Bewertung der Neurotraumata. Die relative Anzahl der CD68-positiven Zellen (Monozyten und Makrophagen) in Verhältnis zu den Gesamtleukozyten wurde durch Zählen der genannten Zellen in fünf repräsentativen Gesichtsfeldern bei 200facher Vergrößerung durchgeführt.

Die histologischen Photographien der Präparate wurden, soweit nicht anders angegeben, mit dem Photomikroskop (Olympus BX 51, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland) aufgenommen und für die vorliegende Arbeit mit Adobe Photoshop 6.0 (Adobe Systems Inc., San Jose, USA) formatiert.

2.5.1 Der histologische Trauma-Score

Der Auswertungsindex setzt sich aus den Beobachtungen der HE-, der Klüver-Barrera- und der CD68-Färbung zusammen. Unabhängig in welcher der drei Färbungen (HE-, Klüver-Barrera- oder CD68-Färbung) ein definierter Schaden entdeckt wurde, wurde ein entsprechender Score-Wert zugeteilt. Dieser richtet sich, wie aus Tab. 1 ersichtlich, nach dem Auftreten einer inflammatorischen Antwort, Hämatomen und eines eventuellen Myelinschadens.

Score Wert	Definition
0	Keine Zeichen eines Traumas
1	Kleinere Bereiche mit einer dezenten Ansammlung inflammatorischer Zellen
2	Großflächige Bereiche mit massiver Akkumulation inflammatorischer Zellen
3	Bereiche mit definitiven Zeichen einer Inflammation mit Hämatom
4	Bereiche mit definitiven Zeichen einer Inflammation mit Myelinschaden

Tabelle 1 Der histologische Trauma-Score¹⁰³

2.6 Statistik

2.6.1 Fallzahlberechnung

Als primärer Endpunkt der Untersuchung wurde die histologische Nervenschadengraduierung (Score-Wert) nach Nadel-Nerv-Perforation mit Pencil-Point oder Tuohy Kanülen definiert. Die Fallzahl wurde so kalkuliert, dass mit einer statistischen Power von 90% ein signifikanter Unterschied von mindestens einem Score-Wert (Unterschied ≥ 1) zwischen den Nadeltypen identifiziert werden konnte. In die Fallzahlberechnung wurde die Negativkontrolle des Plexus brachialis mit einbezogen. Bei maximal vier zu entnehmenden Nerven pro Schwein und pro Kanülen Gruppe ergab sich daraus eine Probenanzahlverteilung von 1:3:3 (Negativkontrolle: Tuohy Gruppe: Pencil-Point Gruppe). Die Fallzahlkalkulation basierte aufgrund der inhomogenen Gruppenverteilung auf dem parametrischen Tukey-Kramer Test, obwohl bei der späteren statistischen Auswertung ein nicht-parametrisches Verfahren eingesetzt werden sollte. Zusätzlich stützte sich die Fallzahlberechnung auf eine geschätzte Standardabweichung von 0,5 und einem Fehler 1. Art von 5%. Die Negativkontrolle des N. ischiadicus (Ausschluss systemischer Einflussgrößen: Infektion, Reaktion auf Medikamente) und die Positivkontrolle des N. tibialis (Kontrolle des

Scores) wurden nicht in die Fallzahlkalkulation mit einbezogen. Unter Berücksichtigung dieser Vorgaben wurde mit dem Programm „PASS 2002 statistical package“ (Numbers Cruncher Statistical Systems Inc., Kaysville, USA) eine Anzahl von mindestens 35 notwendigen Nervenproben ermittelt werden. Eine Verlustrate an Nervenproben von 20% durch technische Probleme oder vorzeitiges Versterben der Versuchstiere wurde angenommen. Somit ergab sich eine notwendige Probenzahl von mindestens 18 für jede Nadel-Gruppe. Da von vier entnehmbaren Nerven pro Nadel-Gruppe und Schwein auszugehen war, ergab sich eine notwendige Anzahl von fünf Versuchstieren.

2.6.2 Statistische Auswertung

Die ermittelten Score-Graduierungen werden als Mediane der Gruppen mit der jeweiligen 25. und 75. Perzentile angegeben. Da bei der Score-Wert-Vergabe keine Zwischenwerte (z. B. 0,5) vergeben wurden, kam ein nicht-parametrischer Test für die statistische Auswertung zum Einsatz. Da drei Gruppen (Pencil-Point Gruppe/ Tuohy Gruppe/ Negativkontrolle Plexus brachialis) in die Fallzahlberechnung eingegangen sind, wurde vorerst ein globales Test-Verfahren benutzt, um einen möglichen signifikanten Unterschied innerhalb der drei Gruppen festzustellen (Kruskal-Wallis Test). Als Signifikanz-Kriterium wurde ein p-Wert $\leq 0,05$ festgelegt. Bei Vorliegen eines signifikanten Unterschiedes wurde eine paarweise post-hoc Testung mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney Test durchgeführt.

Der Anteil monozytischer Zellen an Leukozyten wird durch Mittelwerte und deren Standardabweichung in Prozent beschrieben. War der mediane Score-Wert < 2 sein, wurde der monozytische Anteil an Leukozyten nicht ermittelt.

Zur statistischen Analyse wurde das Programm SPSS für Windows (Version 15.0, SPSS, Chicago, USA) genutzt.

3 Ergebnisse

3.1 Versuchstiere

Insgesamt wurden sechs Schweine für den tierexperimentellen Teil verwendet. Keines der Tiere zeigte Anzeichen eines lokalen oder systemischen Infektes, Fieber ($>40^{\circ}\text{C}$) oder sonstige kardiopulmonale Komplikationen während der Versuche. Aus technischen Gründen (Schneiden und Färben der Nerven) kam es zu einem Verlust von sieben Nerven. Aufgrund dessen wurden sechs statt der initial fünf geplanten Tiere in den Versuchen verwendet.

3.2 Nerventraumata

Je vier Nerven pro Seite des Plexus brachialis wurden mit der Pencil-Point bzw. der Tuohy Kanüle perforiert. Nerven, die mit der Pencil-Point Kanüle perforiert wurden, werden im Folgenden mit Pencil-Point Gruppe, Nerven, die mit der Tuohy Kanüle perforiert wurden, als Tuohy Gruppe bezeichnet. Als Negativ-Kontrollgruppe dienten je ein Nerv pro Schwein aus dem Plexus brachialis sowie ein unbehandelter N. ischiadicus (Negativkontrolle Plexus brachialis und Negativkontrolle N. ischiadicus). Als Positiv-Kontrollgruppe diente der linke N. tibialis (Ligaturgruppe), welcher im Rahmen der Kanülenpositionierungen ligiert wurde.

3.3 Nervenproben

Insgesamt 58 Nerven wurden den Versuchstieren 48 Stunden nach Perforation zur histologischen Untersuchung entnommen. Keiner dieser Nerven wurde aus der Studie ausgeschlossen. Es kam weder zu Einblutungen und unbeabsichtigter Traumatisierung während der Resektion, noch zu anderweitigen Komplikationen. In fast allen Fällen (95%) waren an den Interventionsnerven die Perforationsstellen makroskopisch zu identifizieren. Bei fünf Nerven waren Zeichen eines Ödems makroskopisch sichtbar (Ligatur-Gruppe: zwei Nerven; Tuohy-Gruppe: ein Nerv; Pencil-Point-Gruppe: zwei Nerven). Sowohl die Gruppe Pencil-Point als auch die Gruppe Tuohy bestand aus 20 Nerven, während die Kontrollgruppen aus sechs Nerven des

Plexus brachialis, aus sechs Nerven des N. ischiadicus sowie aus sechs Nerven des N. tibialis bestanden. Insgesamt resultierten aus einem Probenkollektiv von 58 Nerven 16551 Nervenschnitte, wovon 7100 Objektträger nach der Hämatoxylin-Eosin-, 236 Objektträger nach Klüver-Barrera- und 139 Objektträger nach der Anti-CD68-Methode gefärbt wurden.

3.4 HE-Färbung (Screening nach Nervenschäden)

Bei der mikroskopischen Analyse der HE-gefärbten Objektträger wurde an 49 der insgesamt 58 Nerven eine Leukozytenakkumulation festgestellt. Bei 20 von 20 Nerven der Pencil-Point Gruppe (100%) und 20 von 20 Nerven der Tuohy Gruppe (100%) fand sich eine massive, großflächige Leukozytenakkumulation (Abb. 8, 9, 10). In 33,3% der Kontrollgruppe brachialer Plexus (zwei von sechs Nerven) sowie 16,6% der Kontrollgruppe N. ischiadicus (einer von sechs Nerven) wurden ebenfalls Leukozyten gefunden, wenn auch in deutlich geringer Anzahl.

Eine Einblutung in perineuralem Gewebe im Sinne eines Mikrohämatoms (nur im Mikroskop sichtbar, davon keines größer als vier Gesichtsfelder) wurde bei elf von 20 Nerven (55%) der Pencil-Point Gruppe, bei zwölf von 20 Nerven (60%) der Tuohy Gruppe und bei null von zwölf Nerven (0%) der Negativ-Kontrollgruppe (Nerven des Plexus brachialis und N. ischiadici) sowie bei sechs von sechs Nerven (100%) der Positivkontrollgruppe (N. tibialis) festgestellt.

Eine Akkumulation von Leukozyten ging nicht zwangsläufig mit einem sichtbaren strukturellen Schaden der Nervenarchitektur einher.

Artefakte, also Schäden an Faszikel oder Axonen bei fehlenden inflammatorischen Zellen, wurde sowohl in den Interventions-, als auch in den Kontrollgruppen gefunden. Das Auftreten von Hämatomen oder Myelinschäden war zwangsläufig assoziiert mit der Akkumulation von Entzündungszellen.

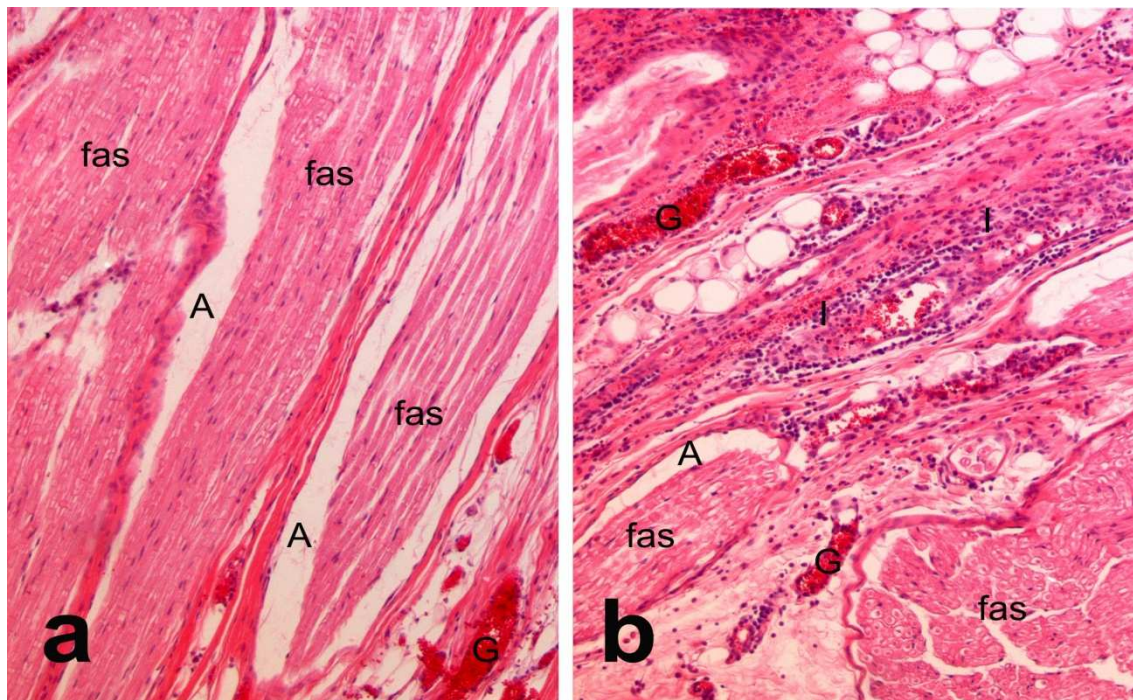


Abbildung 8 HE-Färbung, 100facher Vergrößerung. G, Gefäß; A, Artefakt; fas, Faszikel eines Nervis; I, inflammatorische Zellen. **a** N. medianus ohne Schädigung, Score-Wert 0. **b** N. medianus mit großflächiger Einwanderung inflammatorischer Zellen, Score-Wert 2.

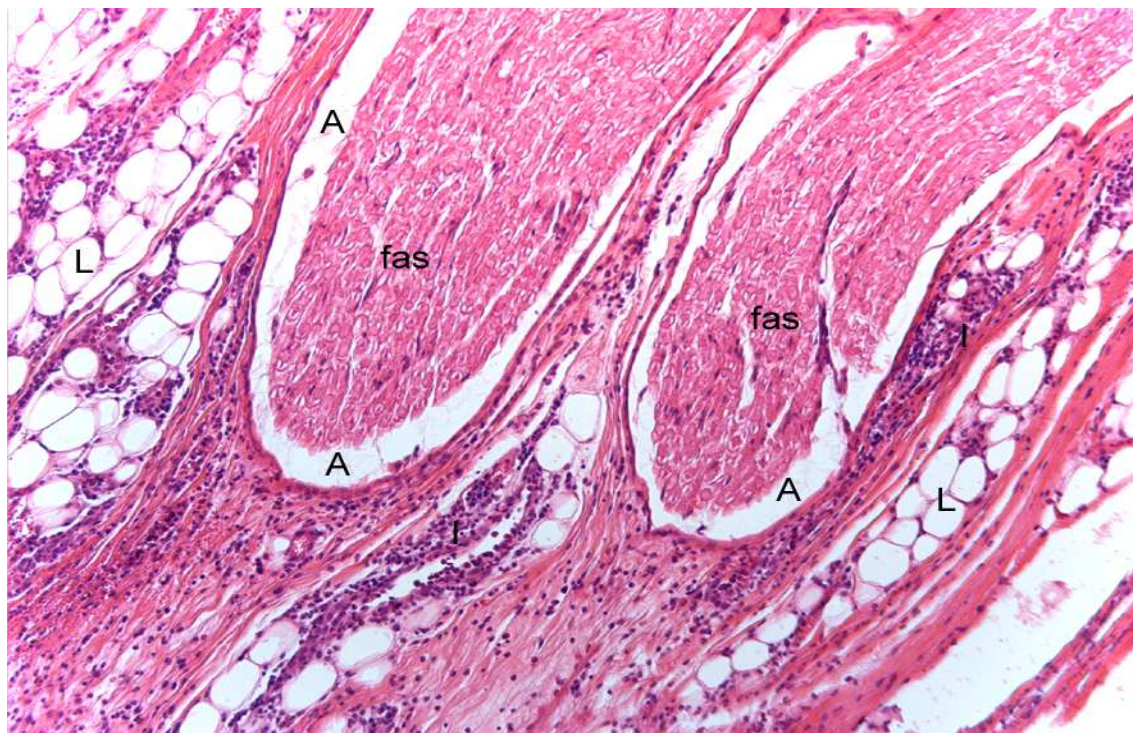


Abbildung 9 HE-Färbung, 200fache Vergrößerung. Inflammatorische Zellen umgeben die Faszikel. A, Schrumpfungsartefakt; fas, Faszikel eines Nervis; I, inflammatorische Zellen; L, Adipozyten.

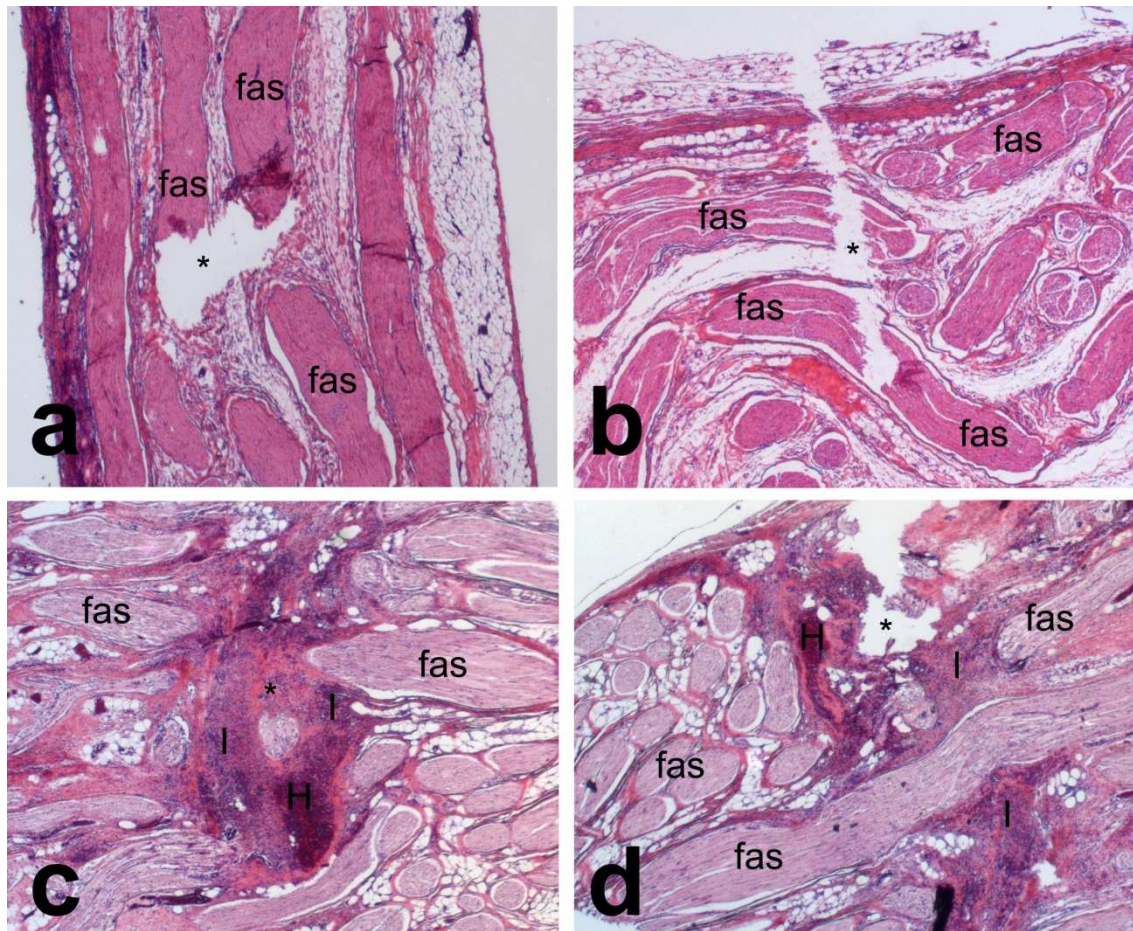


Abbildung 10 Artefakte und Traumata nach Nadel-Nerv-Perforation. HE-Färbung, 100fache Vergrößerung. *, Trauma bzw. Artefakt; fas, Faszikel eines Nervs; I, inflammatorische Zellen; H, Hämatom. **a** Artefakt: N. medianus, Fehlen inflammatorischer Zellen im Bereich des Defektes. **b** Artefakt: N. radialis, Fehlen inflammatorischer Zellen im Bereich des Defektes. **c** Kanülentrauma: N. musculocutaneus, Hämatom, inflammatorische Zellen, struktureller Faszikel-Defekt. **d** Kanülentrauma: N. medianus, Hämatom, inflammatorische Zellen, Faszikel-Defekt.

3.5 Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera (Myelinschäden)

In beiden Interventionsgruppen kam es zu pathologischen Veränderungen der axonalen Architektur (Abb. 11) sowie der Myelinscheiden. Unterschiede gab es in Farbintensität, Dicke der Axone, Schwellung der Myelinscheiden und Größe der Ranvier-Schnürringe. Pathologische Veränderungen kamen in acht von 20 Nerven (40%) der Pencil-Point Gruppe und ebenfalls acht von 20 Nerven (40%) der Tuohy Gruppe vor. In der Positiv-Kontrollgruppe kam es bei fünf von sechs Nerven (83,3%), bei den Negativ-Kontrollgruppen bei null von sechs Nerven (0%) zu Myelinschäden.

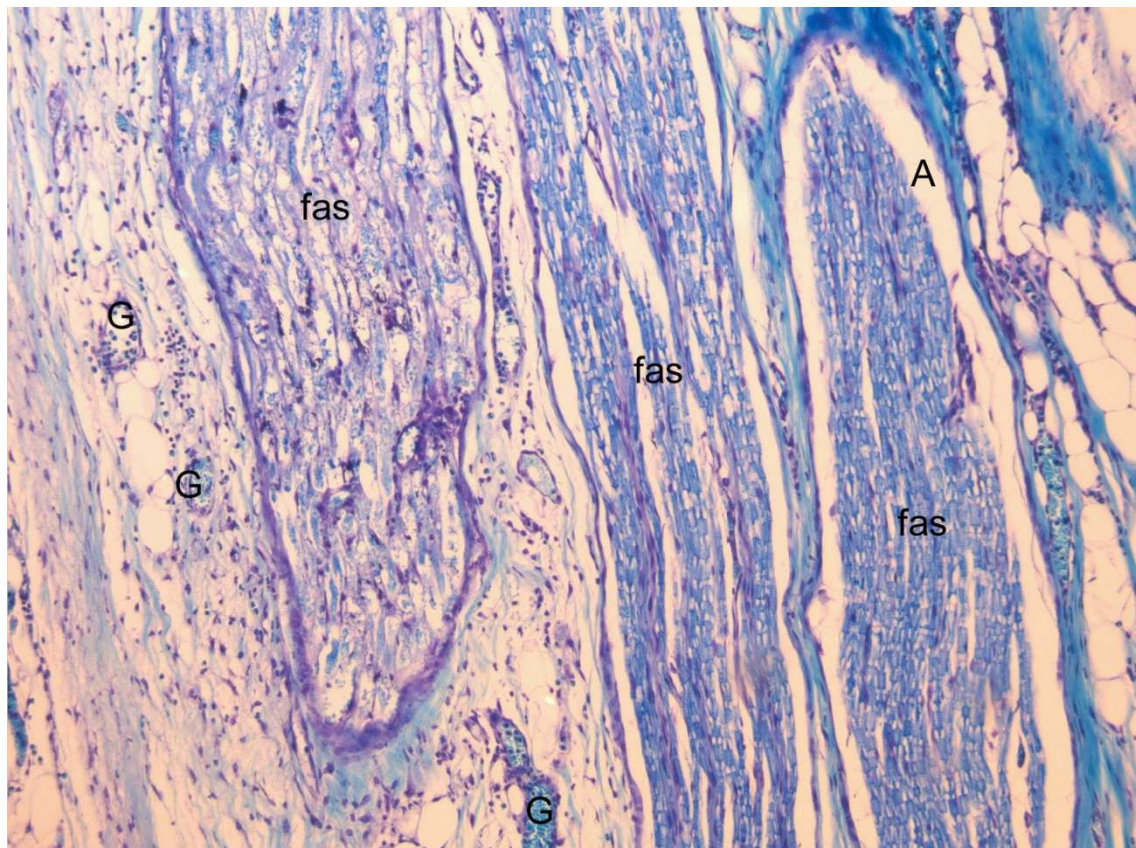


Abbildung 11 Klüver-Barrera-(Myelin)-Färbung, 200fache Vergrößerung. N. axillaris. Drei Faszikel mit unterschiedlicher Ausprägung eines Myelinschadens. Faszikel rechts: relativ homogene Struktur und Durchfärbung der Myelinschichten. Faszikel links: Verlust der Dichte, Skelettierung des Myelingerüstes, ödematöse Schwellung. Anlagerung inflammatorischer Zellen an Gefäßwänden („Rolling“ und Diapedese).

3.6 Immunhistochemische-Färbung (Makrophagenakkumulation)

In 46 der 58 Nerven konnten Ansammlungen von Makrophagen (Abb. 12) nachgewiesen werden. Bei 20 von 20 Nerven der Pencil-Point Gruppe (100%) und 20 von 20 Nerven der Tuohy Gruppe (100%) fand sich eine Makrophagenakkumulation, ebenso in sechs von sechs Nerven der Positiv-Kontrollgruppe (100%). Die relative Anzahl der CD68-positiven Zellen (Makrophagen und Monozyten) im Verhältnis zu den Leukozyten betrug in der Pencil-Point Gruppe $35\pm 9\%$, in der Tuohy Gruppe $33\pm 6\%$ und in der Positiv-Kontrollgruppe betrug dieser Anteil $37\pm 8\%$.

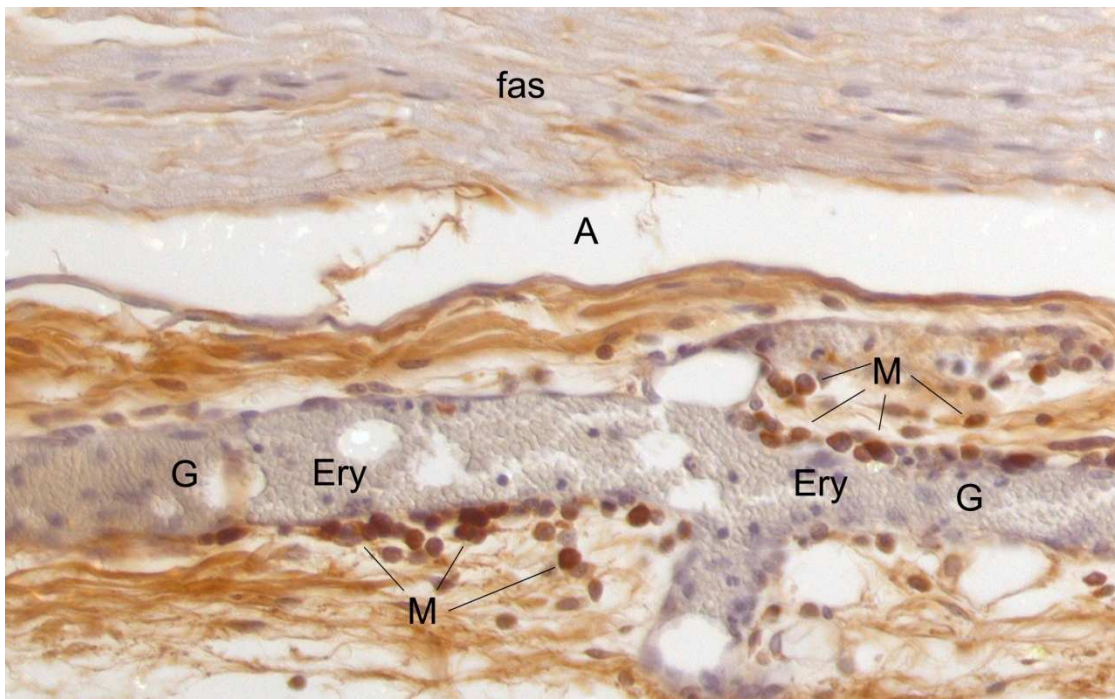


Abbildung 12 Immunhistochemische CD68-Färbung, 400fache Vergrößerung. N. axillaris, A, Artefakt; fas, Faszikel; G, Gefäß; Ery, Erythrozyten; M, Makrophagen

3.7 Ergebnisse des histologischen Trauma-Scores

Die Negativ-Kontrollgruppen (Nn. ischiadici, Nerven des Plexus brachialis) zeigten keine Zeichen eines Nervenschadens, wohingegen Hämatome und Myelinschäden bei großflächiger inflammatorischer Zellakkumulation nach Nadel-Nerv-Perforation und in der Positiv-Kontrollgruppe gefunden wurden. Intraneurale Hämatome traten in der Pencil-Point Gruppe etwas seltener auf, als in der Tuohy Gruppe auf (55% vs. 60%), während es hinsichtlich des Myelinschadens keinen Unterschied zwischen Pencil-Point

und Tuohy Gruppe gab (40% vs. 40%). Nerven mit Zeichen einer Neuroinflammation zeigten in beiden Gruppen eine erhöhte Anzahl an monozytären Zellen.

Die Median-Werte (25./75. Perzentile) nach Nadel-Nerv-Perforation waren in der Pencil-Point Gruppe und der Tuohy Gruppe identisch [3 (3/4)]. In der Positiv-Kontrolle (Nervenligatur als Maximaltrauma) betrug der Median 4 (4/4), wohingegen bei der Negativ-Kontrollgruppe des brachialen Plexus ein medianer Score-Wert von 0 (0/1) und bei der Negativ-Kontrollgruppe des N. ischiadicus ein Median von 0 (0/0) ermittelt wurde. Ein globaler Vergleichstest (Kruskal-Wallis-Test) zwischen Tuohy, Pencil-Point Gruppe und Nullprobe (Pl. brachialis) ergab eine signifikante Differenz ($p < 0,001$). Entsprechend durfte eine post-hoc Analyse zum paarweisen Vergleich durchgeführt werden. Gemäß des paarweisen Vergleichs konnte durch den Wilcoxon-Mann-Whitney Test ohne p-Adjustierung kein signifikanter Unterschied zwischen den Kanülengruppen beschreiben werden ($p = 0,97$), während ein signifikanter Unterschied bei jeweiligem Vergleich der Kanülengruppen mit der Negativkontrolle des Plexus brachialis vorlag ($p < 0,01$). Zusammenfassend kommt es -unabhängig von der verwendeten Nadelkonfiguration- zu vergleichbaren Schweregraden der posttraumatischen Inflammation und zu vergleichbaren strukturellen Veränderungen innerhalb der Nerven (Tab. 2, Abb. 13).

	Tuohy Kanüle	Pencil-Point Kanüle	Kontrollen		
			Negativkontrolle Pl. brachialis	Negativkontrolle N. ischiadicus	Positivkontrolle N. tibialis
Anzahl Nerven (n)	20	20	6	6	6
Histologische Schnitte (n) HE/CD68/KB	2850/55/95	2710/48/102	520/12/12	480/12/12	540/12/12
Hämatome (HE) (n, Nerven)	12	11	0	0	6
Avitales Myelin (KB) (n, Nerven)	8	8	0	0	5
Monozytäre Zellen Median \pm SD (%)	35 \pm 9	33 \pm 6	-	-	37 \pm 8

Tabelle 2 Interventionsgruppen und Kontrollen. Negativkontrolle Plexus brachialis: Ausschluss eines chirurgischen Traumas durch Eröffnung der Axilla; Negativkontrolle N. ischiadicus: Ausschluss systemischer Neuroinflammation (Medikamente, Infektion). Abkürzungen: HE: Hämatoxylin-Eosin Färbung; CD68: immunhistochemische Färbung von CD68-positiven Leukozyten (Makrophagen)²⁸; KB: Myelin Färbung nach Klüver-Barrera^{60,79}; SD: Standardabweichung.

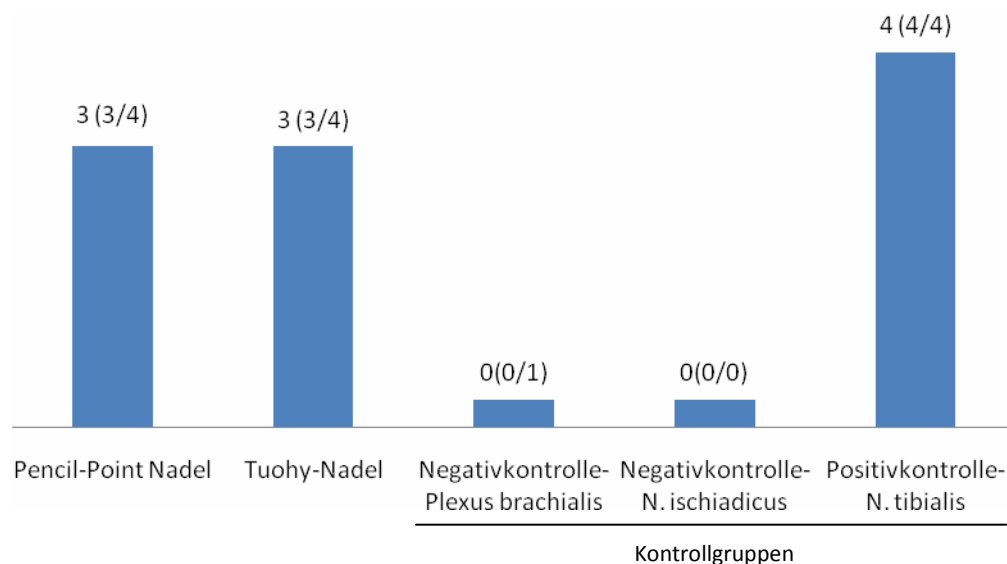


Abbildung 13 Ergebnisse nach histologischem Trauma-Score. Median (25./75. Perzentile). Es lag kein signifikanter Unterschied zwischen Tuohy und Pencil-Point Gruppe vor ($p=0,97$). Pencil-Point und Tuohy Gruppe unterschieden sich signifikant von der Negativ-Kontrolle Plexus brachialis ($p<0,01$).

4 Diskussion

4.1 Ergebnisse

Zwischen den Nadel-Nerv-Perforationen der beiden Nadeltypen fand sich kein signifikanter Unterschied basierend auf dem angewendeten histologischen Score. Unabhängig vom Nadeltyp zeigte sich jedoch nach Perforation der Nerven sowohl mit der Pencil-Point, als auch mit der Tuohy Kanüle ein signifikanter histologischer Schaden.

Unter der Annahme der atraumatischen Nadelkonfiguration der Pencil-Point Kanüle, wurde bei Perforation mit der Tuohy Kanüle -welche vornehmlich bei Katheterv Verfahren Verwendung findet- die Verursachung eines schwereren Traumas angenommen. Entgegen dieser Annahme zeigt die vorliegende Arbeit, dass bei Verwendung einer Tuohy Kanüle kein signifikant größerer Schaden in Hinblick auf Neuroinflammation, intraneurale Hämatome und Myelinschäden festzustellen ist. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass die Annahme, eine Pencil-Point Kanüle sei bei Perforation mit einem geringeren Risiko assoziiert, nicht aufrechterhalten werden kann.

4.2 Die Ergebnisse im Kontext vorliegender Literatur

Verschiedene Arbeitsgruppen haben die Integrität von Nerven nach Perforation mit Pencil-Point Nadeln untersucht.^{46,103} Hirasawa et al. fanden heraus, dass bei Perforation peripherer Nerven von Kaninchen durch Pencil-Point Nadeln und kurz oder lang angeschliffenen Nadeln, die Pencil-Point Nadeln den geringsten Nervenschaden verursachten.⁴⁶ Verglichen mit der vorliegenden Studie wurde bei Hirasawa et al. die Immunreaktion als Zeichen eines Nervenschadens nicht bewertet. Darüber hinaus findet in diesem Studiendesign keine Kontrolle experimenteller Fehler, wie z.B. operatives Trauma, Narkosemittel und Antibiotika, statt. Hirasawa et al. führten die Perforationen am fixierten Nerven in vitro durch und nicht, wie in der aktuellen Studie, in vivo ohne Fixation der Nerven. Dieses Vorgehen führt allerdings zu einer deutlich geringeren Dehnung der Nerven bei Perforation. Darüber hinaus muss die Nutzung von Kleintieren im Rahmen regionalanästhesiologischer Studien, bei Verwendung von

human-medizinischen Nadeln hinsichtlich der Größenverhältnisse, kritisch hinterfragt werden.

Im Hinblick auf oben genannte methodische Limitationen wurden in der vorliegenden Untersuchung Nerven ohne jegliche Intervention (Negativ-Kontrollen) eingeschlossen, um auch unbekannte Störgrößen kontrollieren zu können. Zusätzlich kam es zum Einschluss von Positiv-Kontrollen in Form ligierter Nerven, welche ein maximales Nerventrauma repräsentieren. Der zur Anwendung gekommene Score wurde unter Berücksichtigung der höchsten und der niedrigsten Score-Klassifikation validiert. Die ähnlichen Mediane der Score-Werte der beiden Null-Proben- bzw. Kontrollgruppen des brachialen Plexus und des N. ischiadicus lassen den Rückschluss zu, dass das operative Procedere der Axilla zu keinem relevanten Trauma in Hinblick auf die Neuroinflammation geführt hat. Geringe interindividuelle Unterschiede in den Score-Werten zwischen den einzelnen Schweinen zeigen die Reproduzierbarkeit der angewendeten Methodik. Jede festgestellte Beeinträchtigung der Nervenintegrität ohne Zeichen einer Inflammation wurde als Artefakt gewertet. Wichtig hierbei ist die Tatsache, dass Zeichen einer lokalen Inflammation gewöhnlich erst nach 24 Stunden nach Trauma auftreten.^{103,77}

Es konnte gezeigt werden, dass die Perforation peripherer Nerven durch Kanülen zu einer inflammatorischen Antwort bei Schweinen führt, analog den traumatischen und neuropathischen Veränderungen bei Ratten^{25,26} und Menschen.¹⁰⁷ In der vorliegenden Untersuchung steht der Schweregrad des applizierten Traumas in direktem Zusammenhang mit der konsekutiven Immunreaktion und der Schwere des Schadens. Dieser Zusammenhang konnte von mehreren Arbeitsgruppen vergleichbar beschrieben werden.^{103,76,77} Der angewandte histologische Trauma-Score wertet eine lokale Inflammation (Score-Wert 1 und 2) als Zeichen eines leichten Nerventraumas in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Eliav et al., die eine isolierte aseptische Inflammation in peripheren Nerven (ohne strukturellen Schaden) mit neuropathischen Schmerzen assoziierten.²⁵ Sichtbare Hämatome und Myelinschäden bzw. Faszikelschäden bei massiver Inflammation (Score-Wert 3 und 4) wurden als schweres Nerventrauma bewertet.

In Anlehnung an die aktuellen Ergebnisse kann eine Faszikel-Nadel Kontaktrate von beinahe 40% bei der beobachteten Myelin/Faszikel-Verletzungsrate (40%)

angenommen werden. Interessanterweise berichten Sala-Blanch et al. von einer deutlich geringeren Rate an faszikulären Schäden von ungefähr 3%.⁹⁵ Für deren Untersuchung kamen dünnere Nadeln mit einem Durchmesser von 22G -im Gegensatz zu den aktuell verwendeten 18/19G Nadeln- zum Einsatz. Da aus Nervenperforationen mit dünneren Nadeln (24G) nicht zwangsläufig ein Myelin- respektive Faszikel-Schaden resultiert,¹⁰³ kann dieser Unterschied durch die Größendifferenz der Nadeln zu erklären sein.

Eliav et al. konnten an Ratten zeigen, dass eine alleinige aseptische Entzündung eines peripheren Nerven ohne axonalen Schaden im Stande ist, ein ausgeprägtes Schmerzempfinden zu verursachen.²⁵ Diese Beobachtung ließe sich durch experimentelle Studien erklären, wonach eine trauma-assoziierte Inflammation zur Störung der Nervenfunktion durch die Freisetzung von toxischen Mediatoren aus den aktivierten Makrophagen führen kann.^{57,74} Somit könnte die in der vorliegenden Untersuchung beobachtete traumatisch bedingte inflammatorische Antwort eine zusätzliche Bedeutung für die Entstehung klinisch relevanter neurologischer Defizite haben.

4.3 Limitationen

Die angewandte Methodik hat eine Reihe von Limitationen. In dem in Kapitel 2 beschriebenen Versuchsablauf wurden keine neurologisch-funktionellen Untersuchungen berücksichtigt (wie z.B. Elektromyographie oder postinterventionelle klinische Untersuchungen der Tiere). Für neurologische „Follow up“-Untersuchungen sind Schweine eher ungeeignet. Darüber hinaus ließ das Versuchsprotokoll keine Analyse der Nervenmorphologie und der funktionellen Integrität zu. Die, der Nervenpunktion oder der Nervenentnahme folgende, elektrophysiologische Untersuchung hätte die histologische Beurteilung verfälschen können. Ob die beschriebenen Veränderungen der Nerven zwangsläufig mit funktionellen Konsequenzen einhergehen, bedarf weiterer Untersuchungen. Schwerpunkt dieser Studie war -wie Eingangs bereits erwähnt- die histologische Beurteilung.

Die Verwendung eines für Mäuse spezifischen Antikörpers könnte als weitere Limitation bewertet werden. Jedoch ist bisher kein spezifischer Antikörper für

Schweine kommerziell erhältlich. In mehreren durchgeführten Pilotuntersuchungen und Tests erwies sich der mäuse-spezifische Antikörper als geeignet, um auch im Hausschwein eine makrophagen-spezifische Färbung zu gewährleisten.¹⁰³

Als weitere Limitation der vorliegenden Studie ist die Verwendung unterschiedlicher Nadeldurchmesser zu nennen (Pencil-Point 19G vs. Tuohy 18G). Die Wahl der verwendeten Kanüldurchmesser ergab sich aus der Tatsache, dass in dem zu prüfenden Kaliberbereich keine gleichen Kanüldurchmesser kommerziell verfügbar sind. Der Einfluss des Durchmessers auf das gesetzte Trauma und die damit verbundene Immunreaktion darf nicht vernachlässigt werden. Studien haben gezeigt, dass größere Nadeln auch ein größeres Trauma verursachen.¹⁰³ Vor diesem Hintergrund ist es umso bemerkenswerter, dass die vermeintlich traumatischere Kanüle mit größeren Durchmesser (Tuohy) keine deutlicheren Schäden als die Pencil-Point Nadel ausgelöst hat.

Eine weitere Limitation ergibt sich aus der Perforation der Nerven am eröffneten Plexus brachialis, wie sie in der klinischen Anwendung der Regionalanästhesie nicht vorkommt. Diese Art der Durchführung war zugunsten einer gesicherten Punktion der Nerven und deren Re-Identifikation bei der Entnahme nötig. Der Perforationswinkel der Nadel betrug in den Versuchen gemessen an der Longitudinalachse des Nerven 90 Grad. Dieser Winkel wurde zugunsten der Standardisierung und Reproduzierbarkeit gewählt. In der Praxis hingegen erfolgt das Aufsuchen der Nerven transkutan, ohne direkt chirurgische Intervention gewöhnlich im Winkel von 45° bis 60°. Wobei auch Winkel von 90°, beispielsweise bei vertikalen infraclaviculären Zugängen oder den anterioren oder glutealen Ischiadicuszugängen, im klinischen Alltag zur Anwendung kommen. Das offene chirurgische Prozedere muss als Limitation genannt werden, da Eröffnung und Verschluss der Axilla zu einer Traumatisierung der Nerven geführt haben könnten. Da aber der Kontrollnerv aus dem brachialen Plexus ähnlich niedrige Werte hinsichtlich einer Inflammation zeigt -wie die Kontrolle des N. ischiadicus- kann der Einfluss als gering angesehen werden.

Ebenfalls muss der mögliche Einfluss der systemischen Antibiotikaapplikation mit Zweitgenerations-Cephalosporinen als mögliche Limitation genannt, da Neurotoxizität als Nebeneffekt von Cephalosporinen beschrieben wurde.⁴⁰ Die beobachtete Integrität

beider Kontrollgruppen (Plexus brachialis und N. ischiadicus) sprechen aber gegen einen systemischen Effekt.

4.4 Ausblick

Als Weiterführung dieser Arbeit -auf der Basis der gewonnenen Erkenntnisse- sollte die Überprüfung der klinisch-neurologischen und elektrophysiologischen Konsequenzen der beobachteten traumabedingten histologischen Veränderungen im Mittelpunkt stehen. Insbesondere die Relevanz der lokalen Entzündung nach regionalanästhesiologischen Interventionen sollte im Rahmen von neurologischen Untersuchungen in Hinblick auf klinisch-neurologische Defizite überprüft werden. Neben der Bedeutung der verschiedenen heute verwendeten Nadelspitzen sollte auch kritisch hinterfragt werden, ob noch anderen Faktoren eine Bedeutung für die Entstehung von Nervenschäden durch Regionalanästhesie beigemessen werden muss. So liegen keine Studien zur Bedeutung akzidentieller perineuraler Gefäßperforationen und der anschließenden Hämatomentwicklung innerhalb der Gefäß-Nerven-Scheide für periphere Nerven vor.

Die Anwendung des histologischen Trauma Scores eignet sich, besonders nach einer zukünftigen Assoziation der beobachteten Scores und dem Wissen um dessen klinischer Bedeutung, nicht nur für die Vergleichbarkeit von Nadel-Nerv-Traumata, sondern könnte darüber hinaus auch für die Beurteilung von Nervenschäden anderer Genese (z.B. chemisch durch Toxizität von Lokalanästhetika oder mechanisch, wie Druck oder Zug) als methodisches Instrument eingesetzt werden.

4.5 Schlussfolgerung für die klinische Praxis

Die als vermeintlich atraumatisch geltende Pencil-Point Kanüle löst, bei akzidentieller Perforation peripherer Nerven, gemäß der vorliegenden Untersuchung deutliche traumaassoziierte Inflammationen, intraneurale Einblutungen und Myelinschäden aus. Die bisher nicht untersuchte Tuohy Kanüle, die neben der Pencil-Point Kanüle zur perineuralen Katheterplatzierung eingesetzt wird, erwies sich in der vorliegenden Untersuchung als vergleichbar traumatisch. Die gewonnenen Daten

widersprechen somit der Auffassung, dass die Pencil-Point Kanüle als atraumatisch anzusehen sei und im Falle einer akzidentiellen Nadel-Nerven-Perforation ein geringeres Trauma verursache als die Tuohy Kanüle. Die Verwendung der Pencil-Point Nadel kann gemäß der gewonnenen tierexperimentellen Daten nicht zur Prävention von Nadel-Nerv-Verletzungen empfohlen werden.

5 Zusammenfassung

Einleitung: Nach peripheren Nervenblockaden treten trotz Berücksichtigung vermeintlich nervenschonender Techniken gelegentlich passagere oder selten permanente neurologische Defizite auf. Als häufige Ursache wird die Nervenverletzung während der Kanülenplatzierung diskutiert. Im Falle des „Worst-Case-Szenarios“ Nadel-Nerv-Punktion gilt die stumpfe Pencil-Point Kanüle als weniger traumatisch und wird vor diesem Hintergrund häufig zur perineuralen Platzierung von Lokalanästhetika oder Schmerzkathetern verwendet. Neben dieser Nadel wird die vergleichsweise scharfe Kanüle nach Tuohy regelhaft zur perineuralen Katheteranlage eingesetzt. Bisher liegen keine vergleichenden Daten vor, inwiefern das Ausmaß einer Nervenschädigung im Falle einer Nerven-Perforation durch die Wahl der einen oder anderen Kanüle vermindert werden könnte.

Material und Methoden: Bei sechs anästhesierten Schweinen wurden Nerven am offenen Plexus brachialis mit Pencil-Point (n=20) oder Tuohy Kanülen (n=20) perforiert. Nach 48 Stunden wurden die Nerven in vivo entnommen und histologisch untersucht (HE-, Klüver-Barrera- und Anti-CD68-Färbung). Neben Schwere der traumabedingten Neuroinflammation (immunhistochemische CD68-positive Makrophagenfärbung) wurde das Auftreten intraneuraler Hämatome und Myelinschädigungen (Klüver-Barrera-Färbung) beobachtet. Die Auswertung erfolgte mittels eines histologischen Trauma-Scores anhand von fünf Graden der Nervenschädigung von 0 (kein Schaden) bis 4 (schwerer Schaden).

Ergebnisse: Die anhand der histologischen Trauma-Scores ermittelten Score-Werte durch Perforation mit Pencil-Point oder Tuohy Nadel unterschieden sich nicht signifikant voneinander (Tuohy Gruppe (Median, 25.-75. Perzentile): 3 (3-4); Pencil-Point Gruppe 3 (3-4). Intraneurale Hämatome (60% vs. 55%), Myelinschäden (40% vs. 40%). Eine deutliche trauma-assoziierte Inflammation wurde in beiden Nadel-Typ-Gruppen beobachtet.

Schlussfolgerung: Bei akzidentieller Nervenperforation durch eine Pencil-Point oder Tuohy Kanüle, kommt es unter Anwendung des histologischen Trauma-Scores im Tiermodell zu keinem signifikanten Vorteil für einen Nadeltyp. Diese Beobachtung

impliziert, dass auch die vermeintlich atraumatische Pencil-Point Kanüle einen relevanten Schaden im Falle einer Nadel-Nerven Perforation hervorrufen kann.

6 Summary

Introduction: Continuous catheter techniques for perioperative analgesia require needles for catheter placement. Diameter and tip configuration of the applied needles may differ, and some of these needles have been considered being less traumatic in case of needle-nerve perforation. Aim of this study was to determine whether needle-nerve-perforation with pencil-point cannulae is associated with less nerve injury compared to Tuohy needle tip.

Methods: In six anaesthetized pigs the brachial plexus were exposed bilaterally. Up to eight nerves underwent needle nerve perforation using a pencil-point cannula or a Tuohy-tip needle. After 48 h, the nerves were resected during anaesthesia. The specimens were processed for visual examination and the detection of inflammatory cells, myelin damage and intraneural haematoma. The grade of nerve injury was assessed utilizing an objective score ranging from 0 (no injury) to 4 (severe injury).

Results: 58 nerves -including controls- were examined. According to the applied injury score there was no significant difference between the pencil-point cannula [median (inter-quartile range) 3 (3-4)] and the Tuohy-tip cannula group [3 (3-4), $p=0.99$]. The occurrence of post-traumatic regional inflammation, myelin damage and intraneural haematoma was comparable among both groups.

Conclusions: The severity of nerve injury after a needle-nerve-perforation was not related to the needle type or tip configuration. Regardless of the needle tip configuration applied for nerve perforation pencil-point and Tuohy needle tips result in a comparable magnitude of nerve injury. According to our histological findings, posttraumatic inflammation rather than structural damage of nerve tissue is the most considerable sign of nerve injury after needle-nerve perforation. According to the present data neither pencil-point nor Tuohy-tip configured cannula should be considered less harmful in peripheral regional anaesthesia.

7 Literaturverzeichnis

- 1 Auroy, Y., Benhamou, D., Bargues, L., Ecoffey, C., Falissard, B., Mercier, F. J., Bouaziz, H., and Samii, K. Major complications of regional anesthesia in France: The SOS Regional Anesthesia Hotline Service. *Anesthesiology* 2002;97:1274-1280.
- 2 Auroy, Y., Narchi, P., Messiah, A., Litt, L., Rouvier, B., and Samii, K. Serious complications related to regional anesthesia: results of a prospective survey in France. *Anesthesiology* 1997;87:479-486.
- 3 Bartussek, E., Fatehi, S., Motsch, J., and Grau, T. [Survey on practice of regional anaesthesia in Germany, Austria, and Switzerland. Part 1: Quality assurance and training concepts]. *Anaesthesist* 2004;53:836-846.
- 4 Bonica, J. J. and Moore, D. C. Brachial plexus block anesthesia. *Curr. Res. Anesth. Analg.* 1950;29:241-253.
- 5 Borgeat, A. Neurologic deficit after peripheral nerve block: what to do? *Minerva Anesthesiol.* 2005;71:353-355.
- 6 Borgeat, A. Regional anesthesia, intraneural injection, and nerve injury: beyond the epineurium. *Anesthesiology* 2006;105:647-648.
- 7 Borgeat, A. and Blumenthal, S. Nerve injury and regional anaesthesia. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* 2004;17:417-421.
- 8 Borgeat, A. and Ekatodramis, G. Nerve injury associated with regional anesthesia. *Curr. Top. Med. Chem.* 2001;1:199-203.
- 9 Borgeat, A., Ekatodramis, G., Kalberer, F., and Benz, C. Acute and nonacute complications associated with interscalene block and shoulder surgery: a prospective study. *Anesthesiology* 2001;95:875-880.
- 10 Borgeat, A., Perschak, H., Bird, P., Hodler, J., and Gerber, C. Patient-controlled interscalene analgesia with ropivacaine 0.2% versus patient-controlled intravenous analgesia after major shoulder surgery: effects on diaphragmatic and respiratory function. *Anesthesiology* 2000;92:102-108.
- 11 Borgeat, A. and Singer, T. Nausea and vomiting after spinal anaesthesia with morphine. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 1998;42:1231
- 12 Brull, R., McCartney, C. J., Chan, V. W., and El-Beheiry, H. Neurological complications after regional anesthesia: contemporary estimates of risk. *Anesth. Analg.* 2007;104:965-974.
- 13 Candido, K. D., Sukhani, R., Doty, R., Jr., Nader, A., Kendall, M. C., Yaghmour, E., Kataria, T. C., and McCarthy, R. Neurologic sequelae after interscalene brachial

- plexus block for shoulder/upper arm surgery: the association of patient, anesthetic, and surgical factors to the incidence and clinical course. *Anesth. Analg.* 2005;100:1489-95, table.
- 14 Capdevila, X., Pirat, P., Bringuier, S., Gaertner, E., Singelyn, F., Bernard, N., Choquet, O., Bouaziz, H., and Bonnet, F. Continuous peripheral nerve blocks in hospital wards after orthopedic surgery: a multicenter prospective analysis of the quality of postoperative analgesia and complications in 1,416 patients. *Anesthesiology* 2005;103:1035-1045.
 - 15 Carles, M., Pulcini, A., Macchi, P., Duflos, P., Raucoules-Aime, M., and Grimaud, D. An evaluation of the brachial plexus block at the humeral canal using a neurostimulator (1417 patients): the efficacy, safety, and predictive criteria of failure. *Anesth. Analg.* 2001;92:194-198.
 - 16 Casati, A., Danelli, G., Baciarello, M., Corradi, M., Leone, S., Di, Cianni S., and Fanelli, G. A prospective, randomized comparison between ultrasound and nerve stimulation guidance for multiple injection axillary brachial plexus block. *Anesthesiology* 2007;106:992-996.
 - 17 Chambers, W. A. Peripheral nerve damage and regional anaesthesia. *Br. J. Anaesth.* 1992;69:429-430.
 - 18 Chan, V. W., Perlas, A., McCartney, C. J., Brull, R., Xu, D., and Abbas, S. Ultrasound guidance improves success rate of axillary brachial plexus block. *Can. J. Anaesth.* 2007;54:176-182.
 - 19 Chapman, G. M. Regional nerve block with the aid of a nerve stimulator. *Anaesthesia* 1972;27:185-193.
 - 20 Cheney, F. W., Domino, K. B., Caplan, R. A., and Posner, K. L. Nerve injury associated with anesthesia: a closed claims analysis. *Anesthesiology* 1999;90:1062-1069.
 - 21 Cooper, K., Kelley, H., and Carrithers, J. Perceptions of side effects following axillary block used for outpatient surgery. *Reg Anesth.* 1995;20:212-216.
 - 22 Creange, A., Belec, L., Clair, B., Raphael, J. C., and Gherardi, R. K. Circulating tumor necrosis factor (TNF)-alpha and soluble TNF-alpha receptors in patients with Guillain-Barre syndrome. *J. Neuroimmunol.* 1996;68:95-99.
 - 23 De Andres, J., Onso-Inigo, J. M., Sala-Blanch, X., and Reina, M. A. Nerve stimulation in regional anesthesia: theory and practice. *Best. Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 2005;19:153-174.
 - 24 De Andres, J. and Sala-Blanch, X. Peripheral nerve stimulation in the practice of brachial plexus anesthesia: a review. *Reg Anesth. Pain Med.* 2001;26:478-483.

- 25 Eliav, E., Benoliel, R., and Tal, M. Inflammation with no axonal damage of the rat saphenous nerve trunk induces ectopic discharge and mechanosensitivity in myelinated axons. *Neurosci. Lett.* 2001;311:49-52.
- 26 Eliav, E., Herzberg, U., Ruda, M. A., and Bennett, G. J. Neuropathic pain from an experimental neuritis of the rat sciatic nerve. *Pain* 1999;83:169-182.
- 27 Evans, H., Steele, S. M., Nielsen, K. C., Tucker, M. S., and Klein, S. M. Peripheral nerve blocks and continuous catheter techniques. *Anesthesiol. Clin. North America*. 2005;23:141-162.
- 28 Falini, B., Flenghi, L., Pileri, S., Gambacorta, M., Bigerna, B., Durkop, H., Eitelbach, F., Thiele, J., Pacini, R., Cavaliere, A., and . PG-M1: a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. *Am J Pathol.* 1993;142:1359-1372.
- 29 Fanelli, G., Casati, A., Garancini, P., and Torri, G. Nerve stimulator and multiple injection technique for upper and lower limb blockade: failure rate, patient acceptance, and neurologic complications. Study Group on Regional Anesthesia. *Anesth. Analg.* 1999;88:847-852.
- 30 Faurschou, M. and Borregaard, N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes. Infect.* 2003;5:1317-1327.
- 31 Franco, C. D. and Vieira, Z. E. 1,001 subclavian perivascular brachial plexus blocks: success with a nerve stimulator. *Reg Anesth. Pain Med.* 2000;25:41-46.
- 32 Fredrickson, M. J., Ball, C. M., and Dalglish, A. J. Successful continuous interscalene analgesia for ambulatory shoulder surgery in a private practice setting. *Reg Anesth. Pain Med* 2008;33:122-128.
- 33 Galli, S. J., Nakae, S., and Tsai, M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat. Immunol.* 2005;6:135-142.
- 34 Gentili, M. E. and Wargnier, J. P. Peripheral nerve damage and regional anaesthesia. *Br. J. Anaesth.* 1993;70:594
- 35 Gentili, M. E., Wargnier, J. P., and Caillon, F. C. [Peripheral neurologic complications of brachial plexus blocks]. *Cah. Anesthesiol.* 1990;38:561-567.
- 36 Goerig, M. Carl Ludwig Schleich and the introduction of infiltration anesthesia into clinical practice. *Reg Anesth. Pain Med* 1998;23:538-539.
- 37 Goerig, M. and Schulte am, Esch J. [Carl Ludwig Schleich--pioneer exclusively in infiltration anesthesia?]. *Anesthesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 1993;28:113-124.
- 38 Grau, T., Fatehi, S., Motsch, J., and Bartussek, E. [Survey on current practice of regional anaesthesia in Germany, Austria, and Switzerland. Part 2: Use, success rates and techniques]. *Anaesthesist* 2004;53:847-855.

- 39 Griffin, J. W., George, R., and Ho, T. Macrophage systems in peripheral nerves. A review. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1993;52:553-560.
- 40 Grill, M. F. and Maganti, R. Cephalosporin-induced neurotoxicity: clinical manifestations, potential pathogenic mechanisms, and the role of electroencephalographic monitoring. *Ann. Pharmacother.* 2008;42:1843-1850.
- 41 Hadzic, A., Dilberovic, F., Shah, S., Kulenovic, A., Kapur, E., Zaciragic, A., Cosovic, E., Vuckovic, I., Divanovic, K. A., Mornjakovic, Z., Thys, D. M., and Santos, A. C. Combination of intraneural injection and high injection pressure leads to fascicular injury and neurologic deficits in dogs. *Reg Anesth. Pain Med.* 2004;29:417-423.
- 42 Hall, R. J. Hydrochlorate of cocain. *N Y Med J.* 1884;40:643-646.
- 43 Hartung, H. P., Archelos, J. J., Zielasek, J., Gold, R., Koltzenburg, M., Reiners, K. H., and Toyka, K. V. Circulating adhesion molecules and inflammatory mediators in demyelination: a review. *Neurology* 1995;45:S22-S32.
- 44 Hebl, J. R. Ultrasound-guided regional anesthesia and the prevention of neurologic injury: fact or fiction? *Anesthesiology* 2008;108:186-188.
- 45 Hebl, J. R., Horlocker, T. T., Sorenson, E. J., and Schroeder, D. R. Regional anesthesia does not increase the risk of postoperative neuropathy in patients undergoing ulnar nerve transposition. *Anesth. Analg.* 2001;93:1606-11, table.
- 46 Hirasawa, Y., Katsumi, Y., Kusswetter, W., and Sprotte, G. Experimental studies on peripheral nerve injuries caused by injection needles. *Reg Anaesth.* 1990;13:11-15.
- 47 Hirata, K., Mitoma, H., Ueno, N., He, J. W., and Kawabuchi, M. Differential response of macrophage subpopulations to myelin degradation in the injured rat sciatic nerve. *J. Neurocytol.* 1999;28:685-695.
- 48 Horlocker, T. T., Kufner, R. P., Bishop, A. T., Maxson, P. M., and Schroeder, D. R. The risk of persistent paresthesia is not increased with repeated axillary block. *Anesth. Analg.* 1999;88:382-387.
- 49 Horlocker, T. T., Wedel, D. J., Benzon, H., Brown, D. L., Enneking, F. K., Heit, J. A., Mulroy, M. F., Rosenquist, R. W., Rowlingson, J., Tryba, M., and Yuan, C. S. Regional anesthesia in the anticoagulated patient: defining the risks (the second ASRA Consensus Conference on Neuraxial Anesthesia and Anticoagulation). *Reg Anesth. Pain Med.* 2003;28:172-197.
- 50 Hove, L. D., Nielsen, H. B., and Christoffersen, J. K. Patient injuries in response to anaesthetic procedures: cases evaluated by the Danish Patient Insurance Association. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2006;50:530-535.
- 51 Kalichman, M. W. Physiologic mechanisms by which local anesthetics may cause injury to nerve and spinal cord. *Reg Anesth.* 1993;18:448-452.

- 52 Kalichman, M. W., Moorhouse, D. F., Powell, H. C., and Myers, R. R. Relative neural toxicity of local anesthetics. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1993;52:234-240.
- 53 Kalichman, M. W., Powell, H. C., and Myers, R. R. Pathology of local anesthetic-induced nerve injury. *Acta Neuropathol.* 1988;75:583-589.
- 54 Kalichman, M. W., Powell, H. C., and Myers, R. R. Quantitative histologic analysis of local anesthetic-induced injury to rat sciatic nerve. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1989;250:406-413.
- 55 Kapral, S., Greher, M., Huber, G., Willschke, H., Kettner, S., Kdolsky, R., and Marhofer, P. Ultrasonographic guidance improves the success rate of interscalene brachial plexus blockade. *Reg Anesth. Pain Med.* 2008;33:253-258.
- 56 Kerr, A. T. The brachial plexus of nerves in man, the variations in its formation and branches. *Am J Anat.* 1918;23:285-395.
- 57 Kiefer, R., Kieseier, B. C., Stoll, G., and Hartung, H. P. The role of macrophages in immune-mediated damage to the peripheral nervous system. *Prog. Neurobiol.* 2001;64:109-127.
- 58 Klein, S. M., Evans, H., Nielsen, K. C., Tucker, M. S., Warner, D. S., and Steele, S. M. Peripheral nerve block techniques for ambulatory surgery. *Anesth. Analg.* 2005;101:1663-1676.
- 59 Klein, S. M. and Nielsen, K. C. Brachial plexus blocks: infusions and other mechanisms to provide prolonged analgesia. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* 2003;16:393-399.
- 60 Kluver, H. and Barrera, E. A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *J Neuropathol. Exp. Neurol.* 1953;12:400-403.
- 61 Koda, H. and Mizumura, K. Sensitization to mechanical stimulation by inflammatory mediators and by mild burn in canine visceral nociceptors in vitro. *J. Neurophysiol.* 2002;87:2043-2051.
- 62 Koscielniak-Nielsen, Z. J. Ultrasound-guided peripheral nerve blocks: what are the benefits? *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2008;52:727-737.
- 63 Kulenkampff, D. and Persky, M. A. Brachial Plexus Anesthesia: Its Indications, Technic, and Dangers. *Ann. Surg.* 1928;87:883
- 64 Lee, L. A., Posner, K. L., Cheney, F. W., Caplan, R. A., and Domino, K. B. Complications associated with eye blocks and peripheral nerve blocks: an american society of anesthesiologists closed claims analysis. *Reg Anesth. Pain Med* 2008;33:416-422.
- 65 Lee, L. A., Posner, K. L., Domino, K. B., Caplan, R. A., and Cheney, F. W. Injuries associated with regional anesthesia in the 1980s and 1990s: a closed claims analysis. *Anesthesiology* 2004;101:143-152.

- 66 Leskovar, A., Moriarty, L. J., Turek, J. J., Schoenlein, I. A., and Borgens, R. B. The macrophage in acute neural injury: changes in cell numbers over time and levels of cytokine production in mammalian central and peripheral nervous systems. *J Exp. Biol.* 2000;203:1783-1795.
- 67 Liguori, G. A. Complications of regional anesthesia: nerve injury and peripheral neural blockade. *J. Neurosurg. Anesthesiol.* 2004;16:84-86.
- 68 Liguori, G. A., Zayas, V. M., YaDeau, J. T., Kahn, R. L., Paroli, L., Buschiazio, V., and Wu, A. Nerve localization techniques for interscalene brachial plexus blockade: a prospective, randomized comparison of mechanical paresthesia versus electrical stimulation. *Anesth. Analg.* 2006;103:761-767.
- 69 Lippert H Lehrbuch Anatomie. 2006;7th:
- 70 Löffler and Pertrides Biochemie & Pathobiochemie. 2003;7th:1075
- 71 Macaire, P., Singelyn, F., Narchi, P., and Paqueron, X. Ultrasound- or nerve stimulation-guided wrist blocks for carpal tunnel release: a randomized prospective comparative study. *Reg Anesth. Pain Med.* 2008;33:363-368.
- 72 Menhusen M Comparative Human/Porcine Anatomy. [http://www. anesth. uiowa. edu/rasci/assets/comparat.pdf](http://www.anesth.uiowa.edu/rasci/assets/comparat.pdf)2002;
- 73 Metcalfe, D. D., Baram, D., and Mekori, Y. A. Mast cells. *Physiol Rev.* 1997;77:1033-1079.
- 74 Moalem, G. and Tracey, D. J. Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain. *Brain Res. Rev.* 2006;51:240-264.
- 75 Moayeri, N., Bigeleisen, P. E., and Groen, G. J. Quantitative architecture of the brachial plexus and surrounding compartments, and their possible significance for plexus blocks. *Anesthesiology* 2008;108:299-304.
- 76 Mueller, M., Leonhard, C., Wacker, K., Ringelstein, E. B., Okabe, M., Hickey, W. F., and Kiefer, R. Macrophage response to peripheral nerve injury: the quantitative contribution of resident and hematogenous macrophages. *Lab Invest* 2003;83:175-185.
- 77 Mueller, M., Wacker, K., Ringelstein, E. B., Hickey, W. F., Imai, Y., and Kiefer, R. Rapid response of identified resident endoneurial macrophages to nerve injury. *Am J Pathol.* 2001;159:2187-2197.
- 78 Myers, R. R., Kalichman, M. W., Reisner, L. S., and Powell, H. C. Neurotoxicity of local anesthetics: altered perineurial permeability, edema, and nerve fiber injury. *Anesthesiology* 1986;64:29-35.
- 79 Na Marcos, H. J., Ferrari, C. C., Benitez, I., and Affanni, J. M. Standardization of fixation, processing and staining methods for the central nervous system of vertebrates. *Biocell* 1996;20:265-272.

- 80 Neal, J. M., Gerancher, J. C., Hebl, J. R., Ilfeld, B. M., McCartney, C. J., Franco, C. D., and Hogan, Q. H. Upper extremity regional anesthesia: essentials of our current understanding, 2008. *Reg Anesth. Pain Med.* 2009;34:134-170.
- 81 Olsson, Y. Degranulation of mast cells in peripheral nerve injuries. *Acta Neurol. Scand.* 1967;43:365-374.
- 82 Olsson, Y. Mast cells in the nervous system. *Int. Rev. Cytol.* 1968;24:27-70.
- 83 Pelidou, S. H., Deretzi, G., Zou, L. P., Quiding, C., and Zhu, J. Inflammation and severe demyelination in the peripheral nervous system induced by the intraneural injection of recombinant mouse interleukin-12. *Scand. J. Immunol.* 1999;50:39-44.
- 84 Perkins, N. M. and Tracey, D. J. Hyperalgesia due to nerve injury: role of neutrophils. *Neuroscience* 2000;101:745-757.
- 85 Perlas, A., Chan, V. W., and Simons, M. Brachial plexus examination and localization using ultrasound and electrical stimulation: a volunteer study. *Anesthesiology* 2003;99:429-435.
- 86 Perry, V. H., Brown, M. C., and Gordon, S. The macrophage response to central and peripheral nerve injury. A possible role for macrophages in regeneration. *J. Exp. Med.* 1987;165:1218-1223.
- 87 Peterson, M. K., Millar, F. A., and Sheppard, D. G. Ultrasound-guided nerve blocks. *Br. J. Anaesth.* 2002;88:621-624.
- 88 Redford, E. J., Hall, S. M., and Smith, K. J. Vascular changes and demyelination induced by the intraneural injection of tumour necrosis factor. *Brain* 1995;118 (Pt 4):869-878.
- 89 Reina, M. A., Lopez, A., De Andres, J. A., and Maches, F. [Possibility of nerve lesions related to peripheral nerve blocks. A study of the human sciatic nerve using different needles]. *Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.* 2003;50:274-283.
- 90 Reiss, W., Kurapati, S., Shariat, A., and Hadzic, A. Nerve injury complicating ultrasound/electrostimulation-guided supraclavicular brachial plexus block. *Reg Anesth. Pain Med* 2010;35:400-401.
- 91 Rice, A. S. Peripheral nerve damage and regional anaesthesia. *Br. J. Anaesth.* 1995;75:116
- 92 Rice, A. S. and McMahon, S. B. Peripheral nerve injury caused by injection needles used in regional anaesthesia: influence of bevel configuration, studied in a rat model. *Br. J. Anaesth.* 1992;69:433-438.
- 93 Richman, J. M., Liu, S. S., Courpas, G., Wong, R., Rowlingson, A. J., McGready, J., Cohen, S. R., and Wu, C. L. Does continuous peripheral nerve block provide

- superior pain control to opioids? A meta-analysis. *Anesth. Analg.* 2006;102:248-257.
- 94 Rosenblatt, M. A. and Fishkind, D. Proficiency in interscalene anesthesia-how many blocks are necessary? *J. Clin. Anesth.* 2003;15:285-288.
- 95 Sala-Blanch, X., Ribalta, T., Rivas, E., Carrera, A., Gaspa, A., Reina, M. A., and Hadzic, A. Structural injury to the human sciatic nerve after intraneural needle insertion. *Reg Anesth. Pain Med* 2009;34:201-205.
- 96 Sauter, A. R., Dodgson, M. S., Stubhaug, A., Halstensen, A. M., and Klaastad, O. Electrical nerve stimulation or ultrasound guidance for lateral sagittal infraclavicular blocks: a randomized, controlled, observer-blinded, comparative study. *Anesth. Analg.* 2008;106:1910-1915.
- 97 Schwemmer, U., Markus, C. K., Brederlau, J., and Roewer, N. [Ultrasound-guided peripheral nerve blockade.]. *Anesthesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 2006;41:481-490.
- 98 Selander, D., Dhuner, K. G., and Lundborg, G. Peripheral nerve injury due to injection needles used for regional anesthesia. An experimental study of the acute effects of needle point trauma. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 1977;21:182-188.
- 99 Selander, D., Edshage, S., and Wolff, T. Paresthesiae or no paresthesiae? Nerve lesions after axillary blocks. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 1979;23:27-33.
- 100 Singelyn, F. J., Deyaert, M., Joris, D., Pendeville, E., and Gouverneur, J. M. Effects of intravenous patient-controlled analgesia with morphine, continuous epidural analgesia, and continuous three-in-one block on postoperative pain and knee rehabilitation after unilateral total knee arthroplasty. *Anesth. Analg.* 1998;87:88-92.
- 101 Sites, B. D., Beach, M. L., Spence, B. C., Wiley, C. W., Shiffrin, J., Hartman, G. S., and Gallagher, J. D. Ultrasound guidance improves the success rate of a perivascular axillary plexus block. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2006;50:678-684.
- 102 Stan, T. C., Krantz, M. A., Solomon, D. L., Poulos, J. G., and Chaouki, K. The incidence of neurovascular complications following axillary brachial plexus block using a transarterial approach. A prospective study of 1,000 consecutive patients. *Reg Anesth.* 1995;20:486-492.
- 103 Steinfeldt, T., Nimphius, W., Werner, T., Vassiliou, T., Kill, C., Karakas, E., Wulf, H., and Graf, J. Nerve injury by needle nerve perforation in regional anaesthesia: does size matter? *Br. J. Anaesth.* 2010;104:245-253.
- 104 Swindle, M. M., Smith, A. C., and Hepburn, B. J. Swine as models in experimental surgery. *J. Invest Surg.* 1988;1:65-79.
- 105 Trepel M *Neuroanatomie - Struktur und Funktion.* 2006;3rd:

- 106 Urban, M. K. and Urquhart, B. Evaluation of brachial plexus anesthesia for upper extremity surgery. *Reg Anesth.* 1994;19:175-182.
- 107 Vora, A. R., Bodell, S. M., Loescher, A. R., Smith, K. G., Robinson, P. P., and Boissonade, F. M. Inflammatory cell accumulation in traumatic neuromas of the human lingual nerve. *Arch. Oral Biol.* 2007;52:74-82.
- 108 Witko-Sarsat, V., Rieu, P., scamps-Latscha, B., Lesavre, P., and Halbwachs-Mecarelli, L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 2000;80:617-653.
- 109 Wu, C. L., Cohen, S. R., Richman, J. M., Rowlingson, A. J., Courpas, G. E., Cheung, K., Lin, E. E., and Liu, S. S. Efficacy of postoperative patient-controlled and continuous infusion epidural analgesia versus intravenous patient-controlled analgesia with opioids: a meta-analysis. *Anesthesiology* 2005;103:1079-1088.
- 110 Yuan, Q., Xie, Y., So, K. F., and Wu, W. Inflammatory response associated with axonal injury to spinal motoneurons in newborn rats. *Dev. Neurosci.* 2003;25:72-78.
- 111 Zhu, J., Bai, X. F., Mix, E., and Link, H. Cytokine dichotomy in peripheral nervous system influences the outcome of experimental allergic neuritis: dynamics of mRNA expression for IL-1 beta, IL-6, IL-10, IL-12, TNF-alpha, TNF-beta, and cytolyisin. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1997;84:85-94.
- 112 Zink, W. and Graf, B. M. The toxicity of local anesthetics: the place of ropivacaine and levobupivacaine. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* 2008;21:645-650.

8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungen

Abbildung 1 Plexus brachialis rechts des Schweines

Abbildung 2 Darstellung eines gemischten peripheren Nervs

Kühnel, W. (2002), Taschenatlas Histologie, Thieme Verlag, Stuttgart

Abbildung 3 Kanüle mit Tuohy-Schliff

Produktbeschreibung der Firma Dyna Medical Corp. London

URL: <http://www.dynamedical.com>

Abbildung 4 Kanüle mit Pencil-Point-Schliff

Produktbeschreibung der Firma Dyna Medical Corp. London

URL: <http://www.dynamedical.com>

Abbildung 5 Die verwendeten Nadeltypen in der Übersicht

Abbildung 6 Fixiertes Nervenresektat mit sichtbarer Punktionsstelle

Abbildung 7 Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion

Produktbeschreibung der Firma Biokom, Warschau

URL: <http://www.biokom.com>

Abbildung 8 Beispiel einer HE-Färbung I

Abbildung 9 Beispiel einer HE-Färbung II

Abbildung 10 Artefakte und Traumata nach Nadel-Nerv-Perforation

Abbildung 11 Klüver-Barrera-(Myelin)-Färbung

Abbildung 12 Immunhistochemische Anti-CD68-Färbung

Abbildung 13 Ergebnisse nach histologischem Trauma Score

Tabellen

Tabelle 1 Der histologische Trauma Score

Aus: Steinfeldt, T., Nimphius, W., Werner, T., Vassiliou, T., Kill, C., Karakas, E., Wulf, H., and Graf, J. Nerve injury by needle nerve perforation in regional anaesthesia: does size matter? Br. J Anaesth.2010;104:245-253.

Tabelle 2 Interventionsgruppen und Kontrollen

9 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
AMV	Atemminutenvolumen
Aqua dest.	destilliertes Wasser
CD	Cluster of Differentiation
cm	Zentimeter
cmH ₂ O	Zentimeter Wassersäule
°C	Grad Celsius
d	dies [Tag]
EKG	Elektrokardiogramm
etCO ₂	endtidale CO ₂ Konzentration
G	Gauge
h	hora [Stunde]
HE	Hämatoxylin-Eosin
IL	Interleukin
IPPV	Intermittent-Positive-Pressure-Ventilation
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
KI	Konfidenzintervall
M.	Musculus
min	Minute
mg	Milligramm
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
MW	Mittelwert
N.	Nervus
PAW	Pressure of Airway [Atemwegsdruck]
Pl.	Plexus
SD	Standard Deviation [Standardabweichung]
SpO ₂	periphere Sauerstoffsättigung
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
V.	Vena
µg	Mikrogramm

10 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren:

In Leipzig

Arnhold, Arnold, Brähler, Eilers, Engele, Eschrich, Gebhardt, Poeggel, Riha, Raßler, Robine, Spanel-Borowski, Sträter, Zimmer.

In Marburg

Barth, Bartsch, Baum, Baumann, Becker, Bien, Cetin, Czubayko, Donner-Banzhoff, Eberhart, Engenhardt-Cabillic, Fendrich, Geldner, Görg C., Görg K., Gress, Grimm, Gudermann, Hertl, Hofmann, Höglinger, Hoyer, Kaltenborn, Kann, Kinscherf, Klenk, Klose, Köhler, Krieg, Lohoff, Maier, Maisch, Martin, Max, Mennel, Moll, Moosdorf, Mueller, Müller, Neubauer, Oertel, Plant, Renz, Richter, Roelcke, Rolfes, Rothmund, Ruchholz, Schäfer, Steinfeldt, Stiller, Vassiliou, Vogelmeier, Voigt, Wagner, Werner, Wulf, Zemlin.

11 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Hinnerk Wulf für die Überlassung der Arbeit, seine Unterstützung und Förderung, sowie die Übernahme des Referats.

Ganz besonderer Dank gilt meinem Betreuer und Tutor im PJ Herrn Dr. Thorsten Steinfeldt für dessen beständige und zuverlässige Hilfe, Kritik, Geduld, Begeisterung für die Wissenschaft und die praktische Ausbildung.

Ebenso gebührt Herrn Andreas Gockel mein ausdrücklicher Dank für die vielen Stunden der Unterstützung und Organisation im Tier-OP.

Herrn Dr. Wilhelm Nimphius sei an dieser Stelle mein Dank für den fachlichen Rat und die Hilfe ausgedrückt.

Und nicht zuletzt möchte ich Dankbarkeit meinen Eltern gegenüber ausdrücken, auf deren Unterstützung und Verständnis ich mich jederzeit verlassen konnte und die mir nicht nur diese Arbeit, sondern mein gesamtes Studium ermöglicht haben.